Aus den Forschungslaboratorien der SCHERING AG
Berlin/Bergkamen
Department Allgemeine Pharmakologie

Eine einfache Methode zur Beurteilung von Aldosteronantagonisten am gesunden Probanden: Weiterentwicklung eines an Ratten erprobten Verfahrens mit intravenöser Dauerinfusion von Aldosteron

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jakob Schmalbach
aus Köln

1977

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549607_0022

AUS DEN FORSCHUNGSLABORATORIEN DER SCHERING AG

BERLIN/BERGKAMEN

Department Allgemeine Pharmakologie

EINE EINFACHE METHODE ZUR BEURTEILUNG VON ALDOSTERONANTAGONISTEN AM GESUNDEN PROBANDEN: WEITERENTWICKLUNG EINES AN RATTEN ERPROBTEN VERFAHRENS MIT INTRAVENÖSER DAUERINFUSION VON ALDOSTERON.

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den Medizinischen Fachbereichen der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

JAKOB SCHMALBACH

aus Köln

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Wolfgang Losert
Korreferent: Prof. Dr. med. H. Herken

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 17. Februar 1977

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	6
1.1. Problemstellung	6
1.2. Zielsetzung	18
II. METHODIK	22
2.1. Untersuchungen an Ratten	22
2.1.1. Versuchstiere	22
2.1.2. Prinzip des Untersuchungsverfahrens	23
2.1.3. Substanzapplikation	24
2.1.4. Ablauf des Versuches	24
2.1.5. Apparatur	25
2.1.5.1. Stoffwechselkäfige	26
2.1.5.2. Urinsammler	26
2.2. Untersuchungen an gesunden Probanden	27
2.2.1. Probanden	27
2.2.2. Prinzip des Untersuchungsverfahrens	29
2.2.3. Substanzverabreichung und Flüssigkeitszufuhr	30
2.2.3.1. Infusionslösungen, Aldosteron und Kaliumcanrenoat	30
2.2.3.2. orale Wasserbelastung	31
2.2.3.3. Spirolacton und Spirolactonderivat ZK 62 355	32
2.2.4. Ablauf der Untersuchungen	32

Seite

2.3. Analytik 33

2.3.1. Untersuchungen an Ratten 33

2.3.2. Untersuchungen an gesunden Probanden 34

2.4. Auswertung 35

2.4.1. Berechnungen 35

2.4.1. Statistik 36

III. ERGEBNISSE 39

3.1. Untersuchungen an Ratten 39

3.1.1. Ergebnisse an adrenalektomierten, mit Glucocorticoiden substituierten Tieren 39

3.1.1.1. Einfluß von Aldosteronantagonisten nach oraler Applikation auf die mineralocorticoide Wirkung von intravenös infundiertem Aldosteron 39

3.1.1.2. Einfluß von Kaliumcanrenoat auf die mineralocorticoide Wirkung von Aldosteron bei gleichzeitiger intravenöser Infusion beider Substanzen 41

3.1.2. Ergebnisse an intakten Tieren 43

3.1.2.1. Einfluß von Aldosteronantagonisten nach oraler Applikation auf die mineralocorticoide Wirkung von intravenös infundiertem Aldosteron 58

3.1.2.2. Einfluß von Kaliumcanrenoat auf die Natrium- und Kaliumausscheidung während einer i.v. Infusion mit oder ohne Zusatz von Aldosteron 60

3.2. Untersuchungen an gesunden Probanden 78

3.2.1. Voruntersuchungen zur Ermittlung geeigneter Aldosteron- und Antialdosterondosen 78

3.2.1.1. Elektrolyt- und Wasserausscheidung bei intravenöser und oraler Flüssigkeitsbelastung 79

Seite

3.2.1.2. Ermittlung einer geeigneten Mineralocorticoid-dosierung 79

3.2.1.3. Ermittlung einer geeigneten Spironolacton-dosierung 81

3.2.1.4. Ermittlung einer geeigneten Kaliumcanrenoat-dosierung 81

3.2.2. Hauptstudie: Aldosteronantagonistische Wirkung von Spironolacton, Kaliumcanrenoat und ZK 62 355 bei gesunden Probanden 91

3.2.2.1. Untersuchungen mit Spironolacton 91

3.2.2.2. Stoffwechselprodukte von Spironolacton im Blutplasma und Urin 93

3.2.2.3. Untersuchungen mit Kaliumcanrenoat 100

3.2.2.4. Stoffwechselprodukte von Kaliumcanrenoat im Blutplasma und Urin 108

3.2.2.5. Wirksamkeitsvergleich von Spironolacton und ZK 62 355 115

3.2.2.6. Anhang: Zusammenstellung der mittleren Harnflußraten 125

IV. DISKUSSION 135

V. ZUSAMMENFASSUNG 157

5.1. Tierversuche 157

5.2. Humanpharmakologische Untersuchungen 161

VI. LITERATURVERZEICHNIS 163

VII. LEBENSLAUF 178

1. EINLEITUNG

1.1. Problemstellung

Der therapeutische Wert der Aldosteronantagonisten vom Typ des Spironolactons für die Behandlung von Ödemkrankheiten verschiedener Genese ist seit langem bekannt. Aufgrund ihrer antimineralocorticoiden Wirkung auf die tubuläre Natriumresorption und Kaliumsekretion führen diese Substanzen zu einer gesteigerten renalen Natrium- und Wasserausscheidung bei gleichzeitiger verminderter oder zumindest nicht erhöhter Kaliumelimination (HERKEN, 1969, s. dort weit. Lit.). Insbesondere, wenn im Zusammenhang mit dem Grundleiden (Lebercirrhose, nephrotisches Syndrom, Herzinsuffizienz) oder als Folge einer vorausgegangenen Therapie mit konventionellen Diuretica die Aldosteronsekretion erhöht bzw. die Aldosteroninaktivierung eingeschränkt ist, eignen sich diese Substanzen zur Ausschwemmung pathologischer Natrium- und Flüssigkeitsansammlungen (KRÜCK, 1968; HERKEN, 1969; MANITIUS und SUCHECKI, 1972; s. dort jeweils weit. Lit.). Sie werden z.T. als Monotherapie, mit größerem Erfolg jedoch i.a. zusammen mit anderen Diuretica (Thiaziden) angewendet. Bei der Kombinationstherapie wird die Wirkungsabnahme der Diuretica aufgrund des secundären Hyperaldosteronismus nach den initial eingetretenen Flüssigkeitsverlusten verhindert, der natriumeliminierende Effekt beider Substanzklassen addiert sich, während die allen konventionellen Diuretica eigene Steigerung der Kaliumausscheidung abgeschwächt oder aufgehoben wird (HERKEN, 1969; MANITIUS und SUCHECKI, 1972; s. dort jeweils weit. Lit.).

Vor allem in neuerer Zeit haben sich auch verschiedene Formen der Hypertonie als eine wichtige Indikation für die Anwendung von Aldosteron-antagonisten herausgestellt (KAGAWA, 1964). Neben dem Hochdruck bei primärem Hyperaldosteronismus (Conn-Syndrom) handelt es sich hierbei vor allem um Fälle von essentieller Hypertension, die mit niedriger Reninkonzentration im Blut einhergehen (BIGLIERI, 1960; FRITZ, GERSWEIN, FRANKEN und BETHY, 1964; GWINUP und STEINBERG, 1967; MORLEY, HEADSTREAM und MELBY, 1962 - ADLIN, MARKS und CHANNIK, 1972;

CRANE und HARRIS, 1972; CAREY, DOUGLAS, SCHMEIKERT und LIDDLE, 1972; LIEBAU und JAROSCH-v.SCHWEDER, 1974). Auch wenn über die pathogenetischen Vorgänge bei der Entstehung dieser "low renin hypertension" und die Ursache der guten antihypertensiven Wirksamkeit von Aldosteronantagonisten speziell bei diesem Typ der Erkrankung noch keine völlige Klarheit besteht, so wird der therapeutische Effekt der Spirolactonderivate primärdurch die Reduktion des zirkulierenden Blutvolumens bzw. des extracellulären Flüssigkeitsvolumens als Folge der gesteigerten Elektrolyt- und Wasserausscheidung erklärt (DOUGLAS, HOLLIFIELD und LIDDLE, 1975; LIEBAU und JAROSCH-v.SCHWEDER, 1974).

Insbesondere in den ersten Jahren nach der Entdeckung der kompetitiven Hemmung renaler Mineralocorticoidwirkungen durch Steroide vom Typ des Progesterons und Androstens wurde eine große Anzahl derartiger Substanzen synthetisiert und tierexperimentell geprüft (CELLA und KAGAWA, 1957; CELLA, 1960; KAGAWA, 1964 a; Übersichten s. bei KAGAWA, 1964; HERKEN, 1969). Hiervon gelangten insgesamt jedoch nur wenige Verbindungen in eine humanpharmakologische bzw. klinische Prüfung oder wurden in die Therapie eingeführt. Eine praktische Bedeutung haben nur zwei Substanzen erlangt, von einer dritten ist dies in absehbarer Zeit zu erwarten. Hierbei handelt es sich neben dem Spironolacton [3-(3-Oxo-7α-acetylthio-17ß-hydroxy-4-androsten-17α-yl)-propionsäure-γ-lacton] um das Kaliumcanrenoat [Kalium-3-(3-oxo-17ß-hydroxy-4,6-androstadien-17α-yl)-propionat] und das in neuerer Zeit bekannt gewordene Kaliumprorenoat [Kalium-3-(3-oxo-17ß-hydroxy-6ß,7ß-methylen-4-androsten-17α-yl)-propionat], das sich von den beiden anderen Substanzen durch eine höhere relative Wirksamkeit (Potency) unterscheidet (CELLA, 1960; KAGAWA, 1960; KAGAWA, BOUSKA, ANDERSON und KROL, 1964; HOFMANN, CHINN, PEDRERA, KRUPNICK und SULEYMANOV, 1975).

Wegen seiner schlechten Wasserlöslichkeit bleibt Spironolacton der oralen Anwendung vorbehalten. Bei der Indikation für eine intravenöse Zufuhr kann das als polare Substanz hydrophilere Kaliumcanrenoat verwendet werden (KAGAWA, 1964; SCHATTENFROH, 1968; WILDHIRT, 1968; MROCZEK, DAVIDOV, HOROSCHAK und FINNERTY, jr., 1974; HERKEN, 1969, s. dort weit. Lit.). Auch das wasserlösliche Kaliumprorenoat, dessen aldosteronantagonistische Wirksamkeit am Menschen nach oraler Gabe untersucht und nachgewiesen wurde (RAMSAY, HARRISON, SHELTON und TIDD, 1975), eignet sich für die intravenöse Anwendung.

Angesichts der verhältnismäßig geringen Zahl von Aldosteronantagonisten, die in Humanuntersuchungen auf ihre therapeutische Brauchbarkeit geprüft wurden - nach den publizierten Daten scheint es sich um höchstens 20 Verbindungen zu handeln (KAGAWA, 1964; HERKEN, 1969; RAMSAY, HARRISON, SHELTON und TIDD, 1975) -, verwundert es nicht, daß bisher keine voll befriedigenden Prüfverfahren für die Beurteilung ihrer Wirksamkeit am Menschen existieren.

Der qualitative Nachweis der aldosteronantagonistischen Eigenschaften bereitet hierbei keine Schwierigkeiten. Da die Spirolactone sowohl die renalen Effekte des endogenen Aldosterons als auch exogen verabreichter Mineralocorticoide (Aldosteron, Desoxycorticosteron, 9α-Fluorhydrocortison) blockieren und nur beim Fehlen jeglicher aldosteronartiger Aktivität wirkungslos sind (HERKEN, 1969), kann dieser Nachweis prinzipiell bei gesunden Probanden mit oder ohne Zufuhr eines Mineralocorticoids und Ödemkranken erfolgen. Als Beurteilungsmaßstäbe dienen hierbei alle für einen Aldosteronantagonismus typischen Veränderungen im Elektrolyt- und Wasserhaushalt. Hierzu gehören eine erhöhte Na^+-, verminderte K^+-, H^+- und NH_4^+- Ausscheidung sowie eine daraus resultierende Zunahme des $\frac{Na^+}{K^+}$-Quotienten im Urin, eine Steigerung des Harnvolumens, eine Abnahme der Na^+- und Zunahme der K^+-Konzentration im Serum, eine Reduktion des extracellulären

Flüssigkeits- bzw. Blutvolumens mit der Folge einer Gewichtsabnahme. Sie ist bei Ödemkranken besonders deutlich ausgeprägt und stellt das "sichtbarste" Zeichen des beabsichtigten Therapieerfolges dar. Bedingt durch die Flüssigkeits- und Natriumverluste kann schließlich im Rahmen einer Gegenregulation eine erhöhte Reninsekretion auftreten (KRÜCK, 1968; ERBLER, WERNZE und HILFENHAUS, 1976; MROCZEK, DAVIDOV, HOROSCHAK und FINNERTY, jr., 1974). Dieses Symptom kann allerdings bei Ödemkranken bereits vorher als Folge des Grundleidens bestanden haben. Hierbei ist von Bedeutung, daß der bei Ödemkrankheiten beobachtete sekundäre Hyperaldosteronismus, sofern er nicht auf einer Aldosteronabbaustörung beruht, durch Abnahme des Füllungsvolumens im arteriellen renalen Gefäßsystem bedingt ist und über das reaktiv aktivierte Renin-Angiotensin-System ausgelöst wird (KRÜCK, 1968).

In bezug auf die quantitative Beurteilung aldosteronantagonistischer Effekte, insbesondere den für die Beurteilung neuer Wirkstoffe notwendigen Wirksamkeitsvergleich mit Standardsubstanzen, bestehen dagegen eine Reihe von Schwierigkeiten. Ein exakter quantitativer Wirksamkeitsvergleich am Patienten, der sich auf die Ausschaltung unerwünschter Folgen einer meist erhöhten endogenen Aldosteronaktivität gründet, ist nahezu unmöglich. Wegen der bei verschiedenen Grundleiden (Lebercirrhose, Nephrose, Herzinsuffizienz) unterschiedlichen und von Patient zu Patient variablen Höhe der Aldosteronsekretion (s. HERKEN, 1969) wäre eine derartige Beurteilung auf der Basis äquieffektiver Dosen nur im Individualvergleich ("Cross-over"), möglichst unter Einschaltung therapiefreier Intervalle (Placebophasen), zwischen den verschiedenen Behandlungsabschnitten durchzuführen. Abgesehen davon, daß aus ethischen Gründen bei einer tatsächlich bestehenden Indikation zur Antialdosteronbehandlung (- erkenntlich am Wiederauftreten der Ödeme bzw. der entsprechenden Urin- und Serumveränderungen in der Auslaßphase -) ein Therapieentzug nicht zu verantworten ist, ist nicht mit einer absolut gleichen Grundsituation (Aldosteronsekretion)

über eine längere Zeit zu rechnen. Eine derartige Prüfung müßte sich aber zur Feststellung der Dosiswirkungsbeziehungen von Standard- und Prüfsubstanzen über einen längeren Zeitraum erstrecken. Hinzu kommt, daß klinisch der volle therapeutische Effekt, insbesondere die erstrebte Ödemausschwemmung, erst nach einer Behandlung von mehreren Tagen erreicht wird (BREST und MAYER, 1966; GANTT und ECKLUND, 1962; SIEGENTHALER, TRUNIGER, BÄCHTOLD, RHAMBERG und SIEGENTHALER, 1961; MANITIUS und SUCHECKI, 1972).

Der größte Teil dieser Schwierigkeiten besteht bei gesunden Probanden nicht. Unter standardisierten Versuchsbedingungen ist hier mit einem einheitlichen, niedrigen und damit als Variable weitgehend zu vernachlässigenden endogenen Aldosteroneinfluß zu rechnen, der allein noch keine maximale Steigerung der mineralocorticoidabhängigen tubulären Natriumresorption und Kaliumsekretion bewirkt (ROSS, 1962). Durch zusätzliche exogene Zufuhr von Mineralocorticoiden (Aldosteron, Desoxycorticosteron, 9α-Fluorhydrocortison) läßt sich daher eine dosierbare Natriumretention und erhöhte Kaliumelimination erzeugen. Sie tritt mit der aus Tierexperimenten bekannten und mit der Wirkungsweise von Aldosteron zusammenhängenden Latenzzeit (HERKEN, 1969; KRÜCK, 1968; MORRIS und DAVIS, 1964; EDELMAN und FIMOGNARI, 1968; EDELMAN, 1975; s. dort jeweils weit. Lit.) auf und kann an der Abnahme des Verhältnisses zwischen Na^+- und K^+-Konzentration bzw. -Ausscheidung im Urin ("$\frac{Na^+}{K^+}$-Quotient") abgelesen werden (ROSS, 1962; LEVIN und CADE, 1965; GREENBERG, McNAMARA und McCRORY, 1967; PAUNIER, BORGEAUD und WYSS, 1972).

Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen lag es nahe, Methoden für die quantitative Beurteilung der Wirksamkeit von Aldosteronantagonisten am Menschen primär an gesunden Probanden zu entwickeln, zumal nach den bereits zitierten Untersuchungen kein Anhalt für grundsätzliche Unterschiede in der Wirkungsweise dieser Stoffe bei gesunden und kranken Personen besteht. Soweit dies möglich war, adaptierte man dabei die

im Tierexperiment verwendeten Verfahren an den Menschen. Die klassische, von KAGAWA, SHIPLEY und MEYER (1952) entwickelte und von der gleichen Arbeitsgruppe im Laufe der Jahre modifizierte Methode (weit. Lit. s. bei HERKEN, 1969), mit der bis vor kurzem alle neu synthetisierten Aldosteronantagonisten getestet wurden, basiert auf der Aufhebnung der natriumretinierenden und kaliumeliminierenden Wirkung einer einmaligen Mineralocorticoidgabe (Desoxycorticosteron, Aldosteron) durch parenteral (s.c.) oder oral verabfolgte Spirolactone bei adrenalektomierten Ratten. Da diesen Tieren neben dem absichtlich ausgeschalteten endogenen Aldosteron auch die für eine normale Wasserausscheidungsfähigkeit notwendigen Glucocorticoide fehlen (WIEDERHOLT, STOLTE, BRECHT und HIERHOLZER, 1966; STOLTE, BRECHT, WIEDERHOLT und HIERHOLZER, 1968; s. auch SENFT, 1969) wird ihnen zur Anregung der Diurese nur eine geringe Flüssigkeitsmenge verabfolgt und der in geringen Mengen ausgeschiedene Urin unfraktioniert möglichst quantitativ über 4 Std gesammelt. Der darin bestimmte Na^+/K^+-Quotient charakterisiert damit den Nettoeffekt von Mineralocorticoid und Antimineralocorticoid über einen mehrstündigen Zeitraum. Aufgrund der guten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und einer klaren Dosisabhängigkeit von Aldosteron- bzw. Desoxycorticosteronwirkung und Antialdosteroneffekt ist einerseits grundsätzlich eine quantitative Aussage über deren Wirkungsstärke und somit auch eine vergleichende Bewertung verschiedener Wirkstoffe möglich. Dieses Verfahren erlaubt jedoch keinen Rückschluß auf den Wirkungsverlauf, gibt also keinen Hinweis auf den Anteil der "intrinsic activity" und die Auswirkungen von Pharmakokinetik und Arzneimittelstoffwechsel an der gemessenen Nettowirkung. Aussagen über Langzeiteffekte sind wegen der durch die experimentellen Umstände bedingten Versuchsanordnung überhaupt unmöglich.

Die auf dieser Basis angelegten Untersuchungsmethoden an gesunden Probanden sind im wesentlichen durch die gleichen Nachteile gekennzeichnet. Da hier nicht wie im Tierexperiment ein Glucocorticoidmangel

besteht, brauchte keine Störung der Wasserausscheidungsfähigkeit berücksichtigt zu werden. Dennoch wurde auf eine ausreichend starke oder mehrfache Flüssigkeitsbelastung zur Anregung der Diurese und damit die Möglichkeit einer fraktionierten Harnsammlung über einen längeren Zeitraum verzichtet. Sowohl bei den älteren, von ROSS (1962) bzw. NOEL und LEAHY (1962) beschriebenen Verfahren als auch bei der in jüngerer Zeit publizierten Methode (RAMSAY, HARRISON, SHALTON und TIDD, 1975) wurde stattdessen die Harnsammelperiode auf 8 Stunden ausgedehnt und der im Gesamtvolumen ermittelte Na^+- und K^+-Gehalt bzw. der daraus errechnete Na^+/K^+-Quotient als Bewertungsgrundlage verwendet. Der durch einen unterschiedlichen Wirkungsverlauf bedingte Einfluß auf die Wirksamkeitsrelation zwischen verschiedenen Substanzen war unter diesen Bedingungen gegenüber dem Tierexperiment sogar erhöht.

Als Mineralocorticoid diente in beiden Versuchsanordnungen 9α-Fluorhydrocortison, das einmalig zwei oder vier Stunden vor Beginn der Harnsammlung oral eingenommen wurde. Die zu vergleichenden Spirolactonderivate wurden anfangs (ROSS, 1962) in Anlehnung an bereits erwähnte klinische Erfahrungen (maximaler Therapieerfolg erst nach mehrtägiger Behandlung) mehrfach vor der Untersuchung eingenommen (3 oder 5 Tage lang, z.T. viermal täglich). Bei diesem Verfahren erlaubt die schließlich gemessene Veränderung des Na^+/K^+-Quotienten ohne zusätzliche detaillierte Kenntnisse über Pharmakokinetik und Metabolismus der untersuchten Wirkstoffe nur noch sehr beschränkte Aussagen über die tatsächliche Relation ihrer "intrinsic activity". Da zwar das therapeutische Ziel (Ausscheidung der als Ödem gespeicherten Natrium- und Flüssigkeitsmengen) nicht bei einmaliger Gabe von Spirolactonen erzielbar ist, wohl aber - nach den tierexperimentellen Resultaten - der primäre Effekt auf den tubulären Na^+- und K^+-Transport, bestand für das gewählte Dosierungsschema im Rahmen einer initialen Prüfung der "Potency" am Menschen kein berechtigter Anlaß. Bei der später von RAMSAY, HARRISON, SHELTON und TIDD (1975) mitgeteilten Modifikation

wurde deshalb hierauf auch verzichtet und die Prüf- und Vergleichssubstanz (Kaliumprorenoat und Spironolacton) in verschiedener Dosierung jeweils einmalig zwei Stunden vor Beginn der Urinsammelperiode gegeben.

Diese humanpharmakologischen Verfahren sind nicht nur aus den angegebenen theoretischen Erwägungen in gleicher Weise wie die "klassische" tierexperimentelle Technik unbefriedigend, sondern haben auch zu widersprüchlichen Resultaten über die tatsächliche relative Wirksamkeit neuer Spirolactone geführt. So wurden z.B. mit einer als SC-11927 bekannt gewordenen Substanz [Kalium-3-(3-oxo-9α-fluoro-11ß, 17ß-dihydroxy-4-androsten-17α-yl)propionat] bei unterschiedlicher Vorbehandlungsdauer (3 oder 5 Tage) an gesunden Versuchspersonen erhebliche Differenzen in der "Potency" gegenüber Spironolacton festgestellt (ROSS, 1962; NOEL, 1962; NOEL und LEAHY, 1962).

Um zu Kenntnissen über den zeitlichen Ablauf des aldosteronantagonistischen Effekts von Spirolactonderivaten und damit zu einer exakteren Bewertungsgrundlage für die Beurteilung ihrer Wirksamkeit (Bedeutung von "intrinsic activity" und Pharmakokinetik) zu gelangen, haben HOLLMANN, SENFT und WERNER (1964) bereits vor einigen Jahren ein Verfahren angegeben, bei dem im Tierexperiment über viele Stunden eine fraktionierte Urinsammlung möglich ist. Dieses für Ratten ausgearbeitete Verfahren basiert auf einer von HERKEN und Mitarbeitern (HERKEN, SENFT und WILUTZKY, 1956; HERKEN, NATZSCHKA und SENFT, 1958; HERKEN, SENFT, SCHWARZ und MERKER, 1963) angegebenen Methode, die ursprünglich zur Erzeugung von Natrium- und Wasserretentionen für die Prüfung von Diuretica bzw. zur Erzeugung einer langfristig erhöhten und dabei konstanten Natrium- und Wasserausscheidung für die Untersuchung der Nierenfunktion unter physiologischen und pathologischen Bedingungen aufgebaut wurde. Ihr Prinzip besteht in der kontinuierlichen oralen oder intravenösen Zufuhr isotoner Kochsalzlösungen. Bei konstanter

Lufttemperatur und -feuchtigkeit, also gleichmäßigen und deshalb bei Vergleichsuntersuchungen zu vernachlässigenden Flüssigkeitsverlusten über Haut und Lunge, wird in Abhängigkeit von der zugeführten Natriummenge nach kürzerer oder längerer Zeit ein "steady state" erreicht, bei dem die Bilanz zwischen Natriumeinfuhr und Natriumausscheidung über die Niere ausgeglichen ist. Unter diesen Bedingungen, die auch durch eine konstante glomeruläre Filtrationsrate gekennzeichnet sind, lassen sich pharmakologisch bedingte Einflüsse auf die Nierenfunktion einschließlich auftretender Gegenregulationen sowie Regulationsstörungen verschiedenster Art qualitativ, quantitativ und in bezug auf ihren zeitlichen Ablauf nachweisen.

Zur Beurteilung mineralcorticoider und aldosteronantagonistischer Effekte werden adrenalektomierte Ratten verwendet, denen hypotone (0,2 %ige), mit Glucose äquilibrierte NaCl-Lösung intravenös infundiert wird (5 ml/Tier/Std). Bei Zusatz von Aldosteron (0,25 µg/5 ml/Tier/Std) zur Infusionslösung tritt mit einer Latenzzeit von etwa einer Stunde eine Natriumretention auf, die gegenüber den adrenalektomierten Kontrollen durch Abnahme der Na^+-Konzentration sowie Anstieg des K^+-Gehaltes im Urin bei nicht reduzierter Flüssigkeitsausscheidung gekennzeichnet ist und etwa bis zur 14.Std nach Versuchsbeginn nachgewiesen werden kann (HOLLMANN, SENFT und WERNER, 1964; MARX, 1966). Die zwischen beiden Gruppen bestehende Differenz in der Natriumelimination und im Na^+/K^+-Quotienten erreicht hierbei ein solches Ausmaß, daß sie bei dosisabhängiger gradueller Verminderung durch Aldosteronantagonisten zur Beurteilung ihrer Wirksamkeit über den angegebenen Zeitraum verwendet werden kann.

Anhand des Spironolactons wurde der Vorteil dieses Verfahrens von HOLLMANN, SENFT und WERNER (1964) aufgezeigt und dabei z.B. schon klar demonstriert, daß selbst bei s.c. Applikation einer relativ hohen Dosis (6 mg/Tier) erst nach etwa zwei Stunden ein deutlicher antimineralocorticoider Effekt auftritt, der nach weiteren 6 Std

sein Maximum erreicht. Im "klassischen" Kagawa-Test mit seiner vierstündigen Beobachtungsperiode wird demnach für diese Substanz nicht der Zeitraum der stärksten Wirkung erfaßt.

In der von den genannten Autoren angegebenen Form wies das Verfahren allerdings noch einige Mängel auf, die für eine Anwendung als Routineverfahren zur Beurteilung von Wirkungsqualität, -quantität und -dauer neuer Aldosteronantagonisten hinderlich waren. Wie aus der Untersuchung von HOLLMANN, SENFT und WERNER (1964) hervorgeht, ist unter den gewählten Bedingungen zwar der Wirkungsbeginn des geprüften Antialdosterons exakt feststellbar, nicht jedoch in jedem Fall das Wirkungsende. Da zwischen der 10. und 15. Stunde nach Infusionsbeginn trotz weiterer Zufuhr die Wirkung des Aldosterons aufhört und danach bei diesen Tieren in gleicher Weise wie bei den adrenalektomierten Kontrollratten die Natrium- und Wasserausscheidung kontinuierlich abnimmt, ist eine genaue Beurteilung von Wirkungsstärke und Wirkungsverlauf über die 10. Stunde hinaus nicht möglich. Der Wirkungsverlust des Aldosterons nach anfänglicher Natriumretention ist ein bekannter Vorgang und wird als "escape"-Phänomen bezeichnet (s. HERKEN, 1969).

Die Abnahme von Diurese und Natriurese bei adrenalektomierten Ratten während einer langfristigen Dauerinfusion ist eine Auswirkung des bereits erwähnten Glucocorticoidmangels dieser Tiere. Infolge einer dadurch bedingten primären Störung der Wasserausscheidung - sie geht mit einer Abnahme der Wasserpermeabilität im distalen Tubulussystem einher (STOLTE, BRECHT, WIEDERHOLT und HIERHOLZER, 1968; s. SENFT, 1969) - und einer Verlangsamung der proximalen Passagezeit mit verlängertem Kontakt zwischen Primärharn und resorbierenden Tubulusepithelien (HIERHOLZER, 1964; HIERHOLZER, WIEDERHOLT und STOLTE, 1966; BARTELHEIMER, LOSERT, SENFT und SITT, 1967) sind die nebennierenlosen Ratten trotz des Mineralocorticoidmangels und der dadurch bedingt herabgesetzten Resorptionskapazität der Tubuluszellen nicht in der

Lage, die infundierte Natrium- und Wassermenge zu eliminieren. Dies haben mit der gleichen Versuchsanordnung von MARX (1966) durchgeführte Bilanzuntersuchungen eindeutig gezeigt. Die absolut retinierte Natriummenge liegt dabei um so höher, je größer der Natriumgehalt in der Infusionslösung ist. Bei allen Tieren treten in steigendem Maße Ödeme auf, die unter einer zunehmenden Senkung der Ausscheidungsrate zum Tod führen. Aldosteron bewirkt bei diesem Untersuchungsverfahren zwar eine Senkung der Natriumausscheidung; sie ist jedoch nur relativ und äußert sich als zusätzliche Natriumretention.

Diese Nachteile der Methode lassen sich vermeiden, wenn Ratten nach der Adrenalektomie mit Glucocorticoiden substituiert werden und die Natriumkonzentration in der Infusionslösung gering ist. In ausgedehnten, bisher noch nicht publizierten Untersuchungen haben CASALS, BUSE und LOSERT (1976) nach diesen Grundzügen und unter weitgehender Automatisierung ein Verfahren für die qualitative und quantitative vergleichende Beurteilung antimineralocorticoid wirksamer Substanzen über einen sehr ausgedehnten Zeitraum (z.B. 30 Std) ausgearbeitet. Hierbei zeigte sich, daß durch Substitution mit Glucocorticoiden in einer geeigneten Dosierung bei adrenalektomierten Ratten fünf Tage nach der Operation der Zustand eines isolierten Mineralocorticoidmangels erzeugt werden kann. Intravenös zugeführte Natrium- und Wassermengen werden im geprüften Umfang (bis zu 5 ml 0,9 %ige NaCl-Lösung/Tier/Stunde) nicht nur nicht retiniert, sondern es entsteht unter Berücksichtigung der Einfuhr ein echtes Natriumdefizit. Durch Zusatz von d-Aldosteron zur Infusionsflüssigkeit tritt eine dosisabhängige Natriumretention auf, die bei einer Konzentration von 0,15 µg/Tier (150 g)/Std ihr Maximum erreicht.

Der Effekt des Aldosterons hängt dabei zugleich von der zugeführten Natriummenge ab. Wie schon MARX (1966) gezeigt hat, steigt bei Erhöhung der Natriumeinfuhr zwar die absolut durch das Hormon retiniert

Menge an, prozentual zum infundierten Betrag nimmt sie jedoch ab. Zeitlich hält der Aldosteroneffekt so lange an, bis das initial (in der Latenzzeit) auftretende Natriumdefizit ausgeglichen ist und als Folge einer nun positiven Na^+-Bilanz der extrazelluläre Flüssigkeitsraum ausgeweitet wird. Unter diesen Bedingungen wird die unter Aldosteroneinfluß erhöhte tubuläre Resorptionskapazität durch eine hydrostatisch und onkotisch bedingte Verminderung der Nettoresorption aus dem proximalen Tubulussystem in die peritubulären Kapillaren überspielt (SEALEY und LARAGH, 1974, s. dort weit. Lit.). Da der Bilanzausgleich bei hoher Natriumzufuhr schneller erfolgt als bei niedriger Einfuhr, ist der für eine Antialdosteronprüfung notwendige lang anhaltende Mineralocorticoideffekt bei Infusion von Lösungen mit niedrigem Natriumgehalt (z.B. 3 ml 0,05 %ige, mit Glucose äquilibrierte NaCl-Lösung/Tier/Std) zu erreichen. Im Extremfall, d.h. bei Infusion einer natriumfreien (isotonen Glucose-) Lösung, war bis 30 Std nach Infusionsbeginn, einem Zeitpunkt zu dem die mit Glucocorticoiden substituierten adrenalektomierten Kontrollen eine nicht mehr tolerierbare Hyponatriämie aufweisen, kein Wirkungsverlust des Aldosterons festzustellen.

Durch eine Weiterentwicklung des von HERKEN, SENFT, SCHWARZ und MERKER (1963) angegebenen Infusionsgerätes gelang es, unter Verwendung automatisierter, durch elektronische Zeitschaltuhren gesteuerter Fraktionssammler eine Anlage zur simultanen Untersuchung von 78 nicht narkotisierten Ratten zu konstruieren. Sie ist in einem temperatur- und feuchtigkeitskonstanten Raum untergebracht und erlaubt, bei i.v. Dauerinfusion pro Tier bis zu 15 Urinfraktionen ohne manuelle Bedienung zu gewinnen. Auch die anschließende Analytik (flammenphotometrische Na^+- und K^+-Messung) wurde - bis auf die z.Zt. erst im Aufbau befindliche automatische Volumenbestimmung - einschließlich der sich anschließenden Berechungen und statistischen Auswertungen in einem Großrechner bis auf wenige Handgriffe automatisiert. Bei einem Stichprobenumfang von 9-10 Tieren/Gruppe können in einem Experiment neben adrenalektomierten Kontrollen und einer nur mit Aldosteron behandelten Gruppe zwei Antialdosterone in je drei Dosen simultan entweder nach oraler oder parenteraler Gabe untersucht werden. Der verwendete Stichprobenumfang (von mindestens 8 Tieren) reicht aus, um auf der Basis

der Na^+/K^+-Quotienten im Urin pro Zeitintervall (i.a. 1 Stunde) Unterschiede in der relativen Wirksamkeit von einem Faktor 1,5 (und größer) mit 5 %igem Irrtumsrisiko nicht zu übersehen.
Als Standardsubstanz wird hierbei für nicht wasserlösliche Substanzen Spironolacton (oral oder s.c., 1 Std vor Infusionsbeginn) verwendet. Wasserlösliche Substanzen werden zusammen mit dem Aldosteron intravenös infundiert. Referenzsubstanz ist in diesem Fall Kaliumcanrenoat. Soll der gesamte Wirkungsverlauf charakterisiert werden, dauert die Infusion 15 Stunden. Zur Feststellung von Wirksamkeitsrelationen zum Zeitpunkt des stärksten Effekts werden entsprechende Versuche über 6 Std, d.h. bis zur 7. Std nach oraler oder s.c. Gabe nicht wasserlöslicher Aldosteronantagonisten, durchgeführt. In keinem der bisher geprüften Fälle lag das Wirkungsmaximum (wie beim Spironolacton) nach diesem Zeitpunkt (CASALS und BUSE, 1976).

1.2. Zielsetzung

1.2.1. Da sich das beschriebene Verfahren bei der pharmakologischen Charakterisierung einer großen Zahl neuer Antialdosterone bewährt hat (CASALS und BUSE, 1976), lag es nahe, es an die beim Menschen herrschenden Bedingungen zu adaptieren. Diese Aufgabe war Hauptgegenstand der vorliegenden Studie. Als primäres Ziel wurde dabei angestrebt, mit einem vertretbaren personellen und zeitlichen Aufwand, d.h. in einer "Cross-over" Prüfanordnung mit etwa 5-6 Probanden, für die Praxis ausreichend genaue Wirksamkeitsrelationen zwischen zwei Präparaten ermitteln zu können. Besondere Aufmerksamkeit wurde im einzelnen folgenden Details gewidmet:

a) Erzeugung eines ausreichend hohen und möglichst konstanten Harnflusses, um bei fraktionierter Urinsammlung in stündlichen Portionen über 6-8 Std die renale Natrium- und Kaliumausscheidung verfolgen zu können.

b) Erzeugung eines sicheren, reproduzierbaren Mineralocorticoid-effektes auf die renale Natrium- bzw. Kaliumausscheidung durch i.v. Dauerinfusion von Aldosteron. Hierbei war zu berücksichtigen, daß die angestrebte Dosierung einerseits so hoch sein mußte, daß ihr Effekt sich deutlich von der Wirkung des endogenen Hormons abhob, andererseits aber noch in einer Größenordnung lag, die nach den bekannten Relationen zwischen Agonist und Antagonisten (1 : ≥1000, s. HERKEN, 1969) noch durch Spirolactone in verträglichen Dosen aufgehoben werden konnte.

c) Einhaltung der Versuchsbedingungen, die für die Ausprägung einer Mineralocorticoidwirkung günstig sind. Nach den vorausgegangenen tierexperimentellen Untersuchungen schien hierfür die kurzfristige Erzeugung eines Natriumdefizits durch Zufuhr (weitgehend) natriumfreier Flüssigkeit ("Wasserdiurese") angezeigt. Das Auftreten einer gegenregulatorischen Steigerung der endogenen Aldosteronproduktion wurde nach tierexperimentellen und humanpharmakologischen Ergebnissen, die bei der Erzeugung von Natrium- (und Flüssigkeits)-verlusten durch hohe Dosen eines Diureticums erhalten wurden (SITT, SENFT, LOSERT und KAESS, 1966; ERBLER, 1974) wegen der hierbei beobachteten Latenzzeit für die vergleichsweise kurze Dauer der Harnsammlung nicht erwartet.

d) Ausarbeitung einer Prüfanordnung sowohl für den Wirksamkeitsvergleich oral einzunehmender Aldosteronantagonisten als auch zur Charakterisierung intravenös zu verabreichender Präparate. Als Standardsubstanzen für die Modellentwicklung dienten hierbei Spironolacton und Kaliumcanrenoat. Die Übertragbarkeit tierexperimenteller Ergebnisse auf den Menschen wurde anhand des humanpharmakologischen Vergleichs von Spironolacton und einem ebenfalls nicht wasserlöslichen Spironolactonderivat (Prüfbezeichnung: ZK 62 355) überprüft, das bei adrenalektomierten Ratten eine deutlich differierende (in diesem Fall geringere) relative Wirksamkeit gezeigt hatte (CASALS und BUSE, 1976).

e) Prüfung der Frage, ob die geprüften Antialdosterone in der für die Aufhebung des exogen induzierten Mineralocorticoideffekts notwendigen Dosierung zusätzliche "Eigenwirkungen" besitzen, die sich in einer Veränderung der Natrium- und Kaliumausscheidung gegenüber der reinen Kontrolluntersuchung (ohne Aldosteroninfusion) äußern und auf eine Beeinflussung der endogenen Mineralocorticoide hinweisen.

f) Ermittlung von Beziehungen zwischen pharmakologischem Effekt (Änderungen der Ionenausscheidung) und der Spirolactonkonzentration im Blut bzw. der Spirolactonausscheidung im Urin. Diese Untersuchungen wurden nur im Zusammenhang mit dem Modellaufbau, d.h. bei der Prüfung von Spironolacton und Kaliumcanrenoat, durchgeführt. Als Maß für den Wirkstoffgehalt wurde die Canrenon- (bzw. Canrenon- und Canrenoat-) Konzentration im Serum und im Urin bestimmt. Beide Substanzen sind biologisch aktive Metabolite des Spironolactons bzw. (Canrenon) des Canrenoats und stehen im Organismus im Gleichgewicht miteinander (GOCHMAN und GANTT, 1962; GERHARDS und ENGELHARDT, 1963; ZICHA, WEIST, SCHEIFFARTH und SCHMIDT, 1964; WAGNER, WEIST und ZICHA, 1967; KARIM, RANNEY und MAIBACH, 1971; KARIM, ZAGARELLA, HRIBAR und DOOLEY, 1976; s. auch HERKEN, 1969). Nach tierexperimentellen Befunden besteht eine Korrelation zwischen der renal eliminierten (glomerulär filtrierten und tubulär sezernierten) Spirolacton-(=Canrenon-)Menge und der pharmakologischen Wirkung (HOLLMANN, SENFT und WERNER, 1964).

1.2.2. Im Gegensatz zur humanpharmakologischen Prüfung von Spirolactonen, die aus naheliegenden Gründen nur bei erhaltener Sekretion des endogenen Aldosterons erfolgen kann, wurden tierexperimentelle Wirksamkeitsvergleiche bisher stets an adrenalektomierten Tieren vorgenommen. Die Ausschaltung der körpereigenen Mineralocorticoide

ist zwar für die Einheitlichkeit der Versuchsbedingungen von Vorteil, bringt bei Routineuntersuchungen jedoch einen relativ großen Arbeitsaufwand mit sich.

In einer zweiten - tierexperimentellen - Studie wurde daher der Frage nachgegangen, ob die von CASALS, BUSE und LOSERT (1976) für adrenalektomierte Ratten ausgearbeitete Versuchsanordnung auch auf intakte Tiere übertragbar ist und dort zu den gleichen Ergebnissen führt. Bei diesen vergleichenden Untersuchungen wurden die gleichen Prüfsubstanzen (Spironolacton, ein weniger wirksames Spironolactonderivat und Kaliumcanrenoat) verwendet wie bei der humanpharmakologischen Studie.

2. METHODIK

2.1. Untersuchungen an Ratten

2.1.1. Versuchstiere

Intakte oder adrenalektomierte männliche Wistarratten (Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover) mit einem Körpergewicht von 150 ± (max.) 10 g wurden 4-5 Tage vor Versuchsbeginn in einen klimatisierten Raum (Temperatur: +21°C; Feuchtigkeit: 60 %) gebrach

Die intakten Ratten erhielten Leitungswasser und ein standardisiert Trockenfutter (Herilan(R) R/M 204-Haltungsfutter) ad libitum. Das Futter wurde ihnen 16 Stunden vor Versuchsbeginn entzogen.

Den adrenalektomierten Ratten wurde unmittelbar nach der in Ätheranästhesie 108 Stunden vor dem Versuch durchgeführten Entfernung der Nebennieren 10 mg Fluocortoloncapronat/kg (als Kristallsuspensi zur Glucocorticoid-Substitution subcutan injiziert. Die Tiere verblieben danach bis zum Beginn und während des Versuches im klimatisierten Raum (+ 21°C/60 % Feuchtigkeit), und erhielten eine 0,9 %ig NaCl-Lösung als Trinkflüssigkeit und als Nahrung ebenfalls Herilan(Haltungsfutter ad libitum. 16 Stunden vor dem Versuch, d.h. am 4.Ta nach der Operation, wurden die adrenalektomierten Ratten erneut mi einem Glucocorticoid substituiert. In diesem Fall erhielten sie kei Depotpräparat, sondern eine Substanz mit schnellem Wirkungeintritt (1,25 mg Fluocortolon/kg Körpergewicht, s.c. als Kristallsuspensio Die 0,9 %ige NaCl-Trinklösung wurde bis zum Versuchsbeginn belasse Im Gegensatz zu den intakten Tieren hatten die adrenalektomierten Ratten auch bis zum Beginn der Experimente Zugang zum Futter.

.1.2. Prinzip des Untersuchungsverfahrens

Den intakten oder adrenalektomierten Ratten wurde über eine Schwanzvene eine intravenöse Dauerinfusion angelegt. Als Infusionsflüssigkeit diente eine 0,05 %ige NaCl-Lösung (= 8,5 µval Na^+/ml) mit Zusatz von 5,2 % Glucose zur Aufrechterhaltung der Blutisotonie. Mit Ausnahme der Flüssigkeit, die den jeweiligen Kontrollen infundiert wurde, enthielt die Infusionslösung außerdem 0,05 mg d-Aldosteron[1]/l.

Der während der intravenösen Infusion ausgeschiedene Urin wurde in stündlichen Portionen fraktioniert gesammelt. Von diesen Proben wurden das Volumen sowie in einem Aliquot die Natrium- und Kaliumkonzentration bestimmt. Die Änderungen der renalen Natrium- und Kaliumausscheidung und der daraus berechnete Na^+/K^+-Quotient dienten als Maß für den Aldosteroneffekt und seine Abschwächung durch die geprüften Antialdosterone.

Die Tiere befanden sich während des Versuchs bei leichter Fixierung des Schwanzes in Stoffwechselkäfigen, die eine getrennte Sammlung von Kot und Urin ermöglichen (HERKEN, SENFT, SCHWARZ und MERKER, 1963). Sofern die zu untersuchenden Spirolactone nach oraler Gabe geprüft wurden, erfolgte die Substanzapplikation eine Stunde vor dem Einsetzen der Tiere in die Käfige und dem sich daran anschließenden Beginn der Dauerinfusion. Die Infusion wurde mit einer Geschwindigkeit von 3 ml/Tier/Std über eine peristaltische Mehrfachpumpe (Fa. Desaga) durchgeführt. Bei intravenöser Verabreichung der Prüfsubstanz (Kaliumcanrenoat) wurde diese der Infusionslösung zugesetzt. Bei der angegebenen Infusionsgeschwindigkeit betrug die Natriumzufuhr 25,5 µval/Tier und Stunde.

---

[1] [Aldocorten(R) Ciba]

2.1.3. Substanzapplikation

Spironolacton und das Spironolactonderivat ZK 62 355* wurden p.o. als Kristallsuspension in 0,9 %iger NaCl-Lösung mit Zusatz von 85 mg % Myrj(R) oder als Lösung in Polyäthylenglykol verabreicht. Das Applikationsvolumen betrug 0,5 ml/Tier. Die verwendeten Dosierungen gehen aus dem Ergebnisteil hervor.

Kaliumcanrenoat wurde zur intravenösen Dauerzufuhr (s.2.1.2.) in verschiedener Konzentration (s. Ergebnisteil) im Infusionsmedium gelöst. Entsprechend der unter 2.1.2. angegebenen Infusionsgeschwindigkeit und Hormonkonzentration in der Lösung wurde Aldosteron in einer Dosis von 1 µg / kg /Std (entsprechend ~0,15 µg/Tier/Std) i.v. verabreicht.
Die Kontrolltiere erhielten bei jedem Versuch das entsprechende Lösungs- bzw. Suspensionsmittel in gleicher Applikationsform.

2.1.4. Ablauf des Versuches (Zusammenfassung)

1.Tag: Adrenalektomie und Substitution mit 10 mg Fluocortolon-capronat /kg s.c..

4.Tag: 16 Std vor Versuchsbeginn Substitution mit 1,25 mg Fluocortolon/kg und Futterentzug (bei intakten Tieren).

5.Tag: Diureseversuch: i.v. Dauerinfusion und fraktionierte Urinsammlung über 6 Stunden. Der Gruppenumfang pro Substanz und Dosis betrug n = 7-10 Tiere. Sie waren in randomisierter Reihenfolge in den maximal 78 zur Verfügung stehenden "Meßplätzen" (6 x 13 Stück) untergebracht.

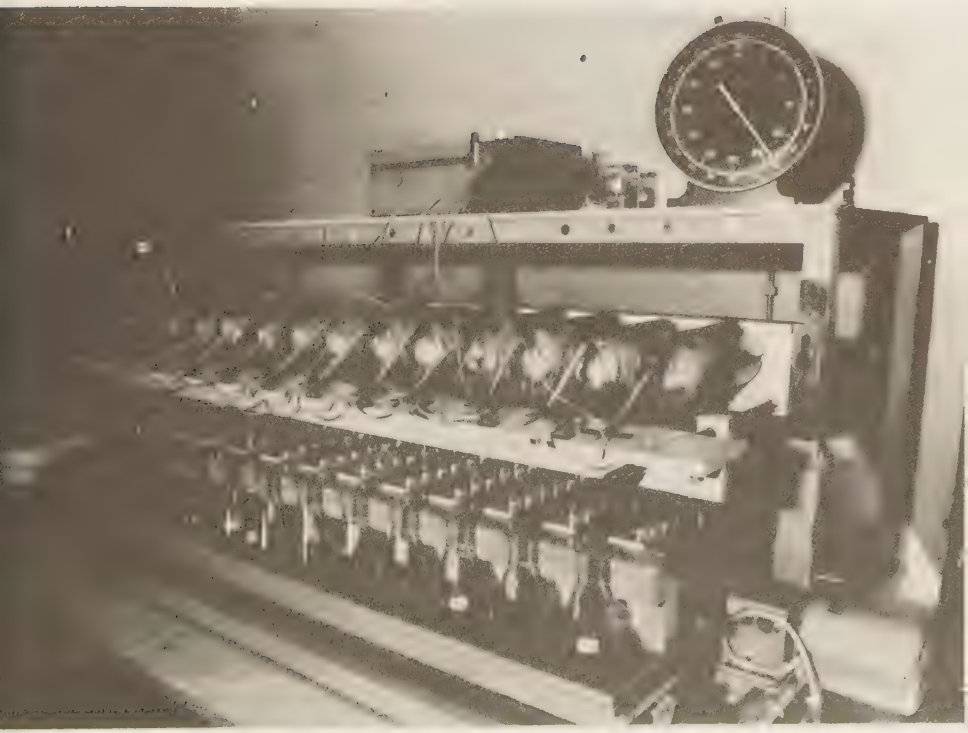
* Δ^{16}-D-Homo-Spironolacton

/

2.1.5. Apparatur

Zur Durchführung der Experimente wurde die in der Einleitung beschriebene Apparatur verwendet, die auf der Grundlage des von Herken, SENFT, SCHWARZ und MERKER (1963) angegebenen Verfahrens von CASALS, BUSE und LOSERT (1976) entwickelt worden ist.
Auf der Abbildung 1 ist eine von sechs Einheiten dieser Anlage abgebildet. Sie ermöglicht die fraktionierte Sammlung des ausgeschiedenen Urins während der gesamten Versuchsdauer.

Abb. 1



Das Gerät setzt sich aus folgenden Teilen zusammen:

2.1.5.1. Stoffwechselkäfige

Hierbei handelt es sich um zylindrische Plastikrohre (16 x 7 cm) mit einer schrägen Blende an der Front. Das hintere Ende ist durch eine mit einer Kerbe versehenen eingeschobenen Platte, aus der der Rattenschwanz herausragt, verschlossen. Am hinteren unter Wandabschnitt des Käfigrohres befindet sich eine mit rostfreiem Drahtnetz bespannte runde Öffnung (Durchmesser: 3,5 cm), durch di der ausgeschiedene Urin abläuft. Neben der Bohrung befinden sich beiderseits Stahlbügel, die den Füßen der Ratte Halt geben. Unter der Bohrung ist ein Trichter angebracht, der den ausgeschie denen Urin in ein graduiertes Röhrchen leitet. Der Kot wird in einer hinter der Abschlußplatte befindlichen Kotrinne aufgefangen

2.1.5.2. Urinsammler

Unter den Rattenkäfigen sind auf einem Wagen Reagenzglasständer mit Bohrungen für je 15 Röhrchen pro Ratte aufgehängt. In jedem Ständer befindet sich ein graduiertes Glasröhrchen unmittelbar unter dem Trichter des zugehörigen Käfigs. Der konzentrische Abfl des Urins in die Röhrchen wird durch inerte (vergoldete) dünne Ketten gesichert, die in die Trichter eingehängt sind. Der Wagen mit den Reagenzglashaltern wird über einen Elektromotor angetrieb Sein Vorschub, der durch die Impulse einer Zeitschaltuhr gesteuer wird, ermöglicht in beliebigen Zeitabständen den Transport des Wagens. Vor und hinter den Reagenzglasständern sind außerdem Erlenmeyerkolben aufgestellt. Sie erlauben einen eventuellen Vor- oder/und Nachlauf bei der Urinfraktionierung.

Jede Urinsammlereinheit verfügt über Platz für 13 Käfige. Die Wechselfrequenz kann zwischen 0,5 und 60 Wechsel/Std variiert werden; einschließlich des Transports vom bzw. zum Vor-/Nachlaufgefäß können 17 Wechsel stattfinden.

2.2. Untersuchungen an gesunden Probanden

2.2.1. Probanden

An den Untersuchungen nahmen insgesamt 14 freiwillige Probanden und Probandinnen teil, davon 9 an den Voruntersuchungen zur Dosisfindung; 6 an der speziellen Prüfung von Spironolacton, 5 am Vergleich zwischen Spironolacton und ZK 62 355 sowie 5 an der Kaliumcanrenoatstudie. Eine Zusammenstellung von Alter, Geschlecht und Gewicht der Probanden geht aus der Übersicht (S.28) hervor. Von den Teilnehmern an der Vorstudie waren je 3 Probanden an den erst nach vollständigem Abschluß dieser Untersuchungen begonnenen zwei Hauptstudien mit Spironolacton/ZK 62 355 und Kaliumcanrenoat beteiligt. Durch Ausfall bei mit ZK 62 355 durchgeführten Untersuchungen schied ein Teilnehmer aus dem Vergleich Spironolacton-Spironolactonderivat aus.

Alle Probanden wurden erst nach Aufnahme ihrer Anamnese, einer eingehenden ärztlichen und labordiagnostischen Untersuchung (mit Schwerpunkt auf Fahndung nach Herz-Kreislauf-, Leber- und Nierenfunktionsstörungen) zur Teilnahme an der Studie zugelassen. Die Einnahme von Medikamenten, insbesondere Antirheumatica, coffein- und alkoholhaltigen Getränken wurde für 24 Stunden vor Versuchsbeginn untersagt.

Die Abstände zwischen zwei Einzeluntersuchungen innerhalb der als "Cross over"-Studien angelegten Hauptprüfungen betrugen für jeden

ÜBERSICHT

Alter, Geschlecht und Gewicht der Teilnehmer(innen) an den humanpharmakologischen Untersuchungen

Initialen	Geschlecht m=männlich w=weiblich	Alter Jahre	Gewicht (kg)	Teilnahme an der Vorstudie zur Dosis-findung	Teilnahme an den Hauptstudien	
					Spirono-lacton/ ZK 62 355	Kalium-canrenoat
D.H.	m	28	73	+	-	+
U.L.	m	19	72	+	+/+	-
G.P.	w	26	49	+	-	-
G.N.	m	27	83	+	-	+
E.P.	w	24	55	+	-	-
J.E.	m	31	82	+	+/-	-
D.B.	m	21	85	+	+/+	-
G.S.	m	31	77	+	-	-
G.H.	m	31	60	+	-	+
K.H.	w	31	60	-	+/+	-
H.R.	m	20	67	-	+/+	-
E.V.	m	20	79	-	+/+	-
O.E.	m	22	69	-	-	+
R.H.	m	31	86	-	-	+

Probanden mindestens eine Woche. Die Abstände zwischen Einzeluntersuchungen in Vor- und Hauptstudien lagen für die davon betroffenen Teilnehmer noch darüber.

.2.2. Prinzip des Untersuchungsverfahrens

Die Untersuchungen wurden unter klinischen Bedingungen im Krankenhaus Porz, Köln, durchgeführt. Das Prinzip des Verfahrens entsprach der bei den Rattenexperimenten beschriebenen Methode:

Aldosteron wurde in einer isotonischen, hier allerdings natriumfreien Glucose-Lösung während 6 Stunden intravenös infundiert. Gleichzeitig erfolgte eine in gleichem zeitlichen Abstand mehrfach wiederholte orale Wasserbelastung, um bei den Probanden eine zur fraktionierten Harnsammlung ausreichend hohe Diurese zu erzeugen. Aus Praktikabilitätsgründen und wegen der damit verbundenen Belastung der Probanden wurde auf eine ausschließlich intravenöse Flüssigkeitszufuhr verzichtet. Im Gegensatz zu den Tierversuchen wurde zur Reduktion eines möglicherweise durch das Aldosteron erzeugten Kaliumdefizits der Infusionslösung eine geringe Menge Kalium zugesetzt. Bei den Kontrolluntersuchungen wurde bei sonst gleichem Versuchsablauf aldosteronfreie Lösung infundiert. Die Höhe der intravenösen und oralen Wasserbelastung sowie einer geeigneten Aldosteronkonzentration wurden im Rahmen der erwähnten Vorstudie ermittelt. Das gleiche gilt für die Erarbeitung geeigneter Dosierungen für die Prüfung der Aldosteronantagonisten Spironolacton und Kaliumcanrenoat, die oral in bestimmtem zeitlichem Abstand vor Infusionsbeginn eingenommen bzw. der Infusionslösung zugesetzt wurden. Als Maß für den Aldosteroneffekt und die Antialdosteronwirkung wurde die Beeinflussung der Na^+- und K^+-Konzentration bzw. -Ausscheidung im Urin und der daraus berechnete Na^+/K^+-Quotient gewählt. Außerdem wurde die Konzentration fluoreszierender Metabolite im Urin bzw. Plasma bestimmt.

Nach Festlegung der genauen Versuchsbedingungen bei Abschluß der Vorstudie wurden in den zwei Hauptstudien (Prüfung von Spironolacton/ ZK 62 355 bzw. Kaliumcanrenoat) an jedem beteiligten Probanden in randomisierter Reihenfolge folgende Prüfungen durchgeführt:

1. Kontrollinfusion ohne Aldosteron.
2. Kontrollinfusion mit Aldosteron.
3.-5. Infusion mit Aldosteron bei gleichzeitiger Behandlung mit Spironolacton oder Kaliumcanrenoat in drei verschiedenen Dosierungen.
6.-8. Infusion ohne Aldosteron bei gleichzeitiger Behandlung mit Spironolacton oder Kaliumcanrenoat in drei verschiedenen Dosierungen (Feststellung der "Eigenwirkungen" dieser Substanzen).
9.-11.: Nur im Rahmen der Spironolacton/ZK 62 355-Studie - Infusion mit Aldosteron bei gleichzeitiger Behandlung mit drei verschiedenen Dosen von ZK 62 355.

   Auf die Untersuchung von Eigenwirkungen dieses Spironolactonderivats wurde wegen des sonst zu ausgedehnten zeitlichen Umfanges der Studie verzichtet.

2.2.3. Substanzverabreichung und Flüssigkeitszufuhr

2.2.3.1. Infusionslösungen, Aldosteron, Kaliumcanrenoat

Folgende Infusionslösungen wurden verwendet:

a) Infusionslösung ohne Aldosteron:

6,8 ml konzentrierter KCl-Lösung (Kaliumchloridlösung salvia(R), Boehringer Mannheim GmbH, 7,4 g KCl/100 ml) wurden zu 500 ml isotonischer (= 5,2 %iger) Glucoselösung zugegeben.
Die K^+-Konzentration der Lösung entsprach damit 13,4 µval/ml

b) Infusionslösung mit Aldosteron:

b.1. Zusatz von 6,8 ml konzentrierter KCl-Lösung zu 500 ml 5,2 %iger Glucoselösung (wie a.).

b.2. Die pro Proband vorgesehene Infusionsdosis von 0,5 mg oder 3 mg d-Aldosteron [= 1 ml oder 6 ml kommerziell erhältlicher Aldosteronlösung (Aldocorten(R), Ciba)] wurde zu gleichen Teilen auf drei während der sechsstündigen Infusion zu verabreichende 500ml-Flaschen mit Glucose-KCl-Lösung verteilt. Die Endkonzentration betrug 0,333 mg/l bzw. 2 mg/l Infusionslösung.

c) Infusionslösung mit Kaliumcanrenoat

Aus einer 500 ml-Flasche isotonischer (5,2 %iger) Glucoselösung wurde das dem später zugesetzten Kaliumcanrenoat-Konzentrat entsprechende Volumen steril abgezogen. Zur verbleibenden Lösung wurde in Abhängigkeit von der in der jeweiligen Studie verwendeten Kaliumcanrenoatdosierung eine variable Menge an konzentrierter KCl-Lösung (s. a.) und die beabsichtigte Kaliumcanrenoatdosis [als kommerzielle Injektionslösung, Aldactone pro injectione, Boehringer Mannheim GmbH] zugegeben. In jedem Fall betrug der Kaliumgehalt am Ende 13,4 µval/ml. Die Kaliumcanrenoatkonzentrationen lagen zwischen 100 und 400 mg/500 ml Infusionslösung. Die in der entsprechenden Hauptstudie verwendeten 3 Dosen wurden nach den Ergebnissen der Voruntersuchung festgelegt.

d) Infusionslösung mit Aldosteron und Kaliumcanrenoat

Für die Zubereitung dieser Lösung wurde wie bei b. und c. verfahren.

Diese Lösungen wurden mit einer Geschwindigkeit vom 250 ml/Std während 6 Stunden infundiert. Die intravenöse Flüssigkeitszufuhr betrug damit 1,5 l.

2.2.3.2. Orale Wasserbelastung

Die orale Wasserbelastung erfolgte mit "Birresborner" Mineralwasser, das 21,0 mval Na^+/l, 0,7 mval K^+/l und 2,0 mval Cl^-/l enthält. Die aufgenommenen Volumina waren zunächst variabel und wurden erst nach Abschluß der Vorstudie endgültig fixiert. Sie bewegten sich insgesamt zwischen 250 ml/30 min und 250 ml/60 min.

2.2.3.3. Spironolacton und Spironolactonderivat ZK 62 355

Spironolacton wurde in Form von 50 mg Wirkstoff enthaltenden Kapseln (eigene Vorbereitung) und kommerziellen Aldactone(R)-Kapseln (Boehringer Mannheim GmbH, Wirkstoffgehalt: 100 mg) 1,5 Stunden vor Infusionsbeginn den nüchternen Probanden oral verabreicht. Es handelte sich jeweils um magensaftlösliche Kapseln der Größe 2. Die Dosierungen lagen zwischen 50 und 800 mg/Proband. Wie im Fall des Kaliumcanrenoats erfolgte die Festlegung der Dosen für die betreffende Hauptstudie nach den Ergebnissen der Dosisfindu in der Vorstudie.

Das Spironolactonderivat ZK 62 355 (interne Prüfbezeichnung der Schering AG) war in selbst vorbereiteten 100 mg-Kapseln des gleiche Typs enthalten. Es wurde in drei Dosen von 100, 400 und 1200 mg/Proband verabreicht.

2.2.4. Ablauf der Untersuchungen

Die letzte Nahrungsaufnahme vor dem Versuch fand spätestens um 19.00 Uhr des Vorabends statt.

Von 7.00 bis 9.00 Uhr befanden sich die nüchternen Probanden mit Ausnahme der notwendigen Unterbrechungen (s. nachfolgende Seite)

in Ruhelage. Während dieses Zeitabschnitts wurde ihnen Blut zur Bestimmung des Ausgangswertes der untersuchten Variablen entnommen. Außerdem erfolgte eine Bestimmung von Blutdruck, Puls und Körpergewicht sowie eine Ableitung des EKG. Der morgentliche Urin (er entsprach der 1. Urinprobe = Vorwert) wurde vor 7.30 entleert und gesammelt. Um 7.30 Uhr erhielten die Probanden ein standardisiertes Frühstück, das aus 250 ml Milch, je einer Scheibe Knäcke-, Grau- und Weißbrot sowie 20 g Butter bestand. Bei oraler Verabreichung der Aldosteronantagonisten (Spironolacton oder ZK 62 355) wurden die entsprechenden Kapseln unmittelbar vor dem Frühstück eingenommen.

Um 9.00 Uhr begann die intravenöse Infusion der für den jeweiligen Tag vorgesehenen Lösung und die periodische orale Wasserbelastung. Die Beendigung der Flüssigkeitszufuhr, i.v. Infusion und orale Wasseraufnahme, fand nach 6 Stunden (15.00 Uhr) statt. Danach blieben die Probanden für weitere zwei Stunden, d.h. bis 17.00 Uhr, in Ruhelage.

Die Urinsammlung erfolgte stündlich von 9.00 bis 17.00 Uhr durch möglichst vollständige Entleerung der Harnblase. Um 12.00, 15.00 und 17.00 Uhr wurden drei weitere Blutproben entnommen. Abschließend (17.00 Uhr) wurden nochmals Blutdruck, Puls und Körpergewicht bestimmt sowie in einigen Fällen ein EKG abgeleitet.

.3. Analytik

.3.1. Untersuchungen an Ratten

Die Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin wurde in einem Aliquot der (meist) unverdünnten Proben mit einem automatisch arbeitenden Flammenphotometer der Firma Beckman (Typ "KLiNa"$^{(R)}$) bestimmt. Dieses Gerät war über ein Interface zur automatischen Registrierung der in der Dimension µval/ml angegebenen Meßwerte an einen

elektronischen Rechner angeschlossen*.

Die von den graduierten Röhrchen, in denen der Urin aufgefangen wurde, abgelesenen Harnvolumina wurden über ein ebenfalls angeschlossenes Terminal manuell in den elektronischen Rechner eingegeben. Die gespeicherten Volumina und Elektrolytkonzentrationen (Na^+ und K^+) wurden im Rechner zur Durchführung der später beschriebenen Berechnungen synchronisiert.

2.3.2. Untersuchungen an gesunden Probanden

In je einem Aliquot der Urinfraktionen, deren Volumina zunächst mit einem geeichten Meßzylinder ermittelt wurden, erfolgte eine Bestimmung der Natrium- und Kaliumkonzentration mit einem Flammenphotometer des Typs I T 43**. Die in der Dimension ml bzw. mval/l erhaltenen Ergebnisse wurden manuell zur weiteren Berechnung in die gleiche Rechenanlage eingegeben wie die tierexperimentellen Daten.

Unabhängig davon wurden in allen Proben auch Dichte, pH und Chloridkonzentrationen gemessen**. Da die Kenntnis dieser Größen nicht zur Beantwortung der vorgegebenen Fragestellung beiträgt, wurde auf ihre Auswertung im Rahmen der vorliegenden Arbeit verzichtet. Das gleiche gilt für den Na^+-, K^+- und Cl^--Gehalt im Plasma**, der im Übrigen auch keine Veränderungen während der jeweils achtstündigen Beobachtungsperiode aufwies.

---

* Diese Bestimmungen wurden im Dept. Allg. Biochemie der Forschungslaboratorien der Schering AG durchgeführt.

** Diese Untersuchungen wurden im Klinischen Laboratorium des Krankenhauses Porz, Köln, durchgeführt.

Als zusätzliche Information wurde zur Bewertung der Ergebnisse der Verlauf der Canrenon- bzw. Canrenoat-Konzentration im Plasma und die Ausscheidung dieser Metabolite und des Canrenoatglucuromids im Urin verfolgt. Für diesen Zweck wurde die von SADEE, DAGCIOGLU und RIEGELMAN (1972) angegebene Fluoreszenzmethode verwendet*(s. Fußnote auf Seite 34).

4. Auswertung

4.1. Berechnungen

4.1.1. Elektrolyt- und Wasserausscheidung

a. Hierbei wurden folgende Variablen gemessen:

1. Volumen des Harns [ml/Std]
2. Na^+-Konzentration [µval/ml] bzw. bei den Humanuntersuchungen [mval/l]
3. K^+-Konzentration [µval/ml] bzw. bei den Humanuntersuchungen [mval/l]

b. Daraus wurden folgende weitere Variablen berechnet:

1. Na^+-Gesamtausscheidung (Na^+ x Vol.) [µval/Std und Ratte] bzw. [mval/Std und Proband]
2. K^+-Gesamtausscheidung (K^+x Vol) [Dimension wie bei Na^+]
3. Na^+/K^+-Quotient $(\frac{Na^+}{K^+})$

Alle Berechnungen erfolgten nach einem vorgegebenen Rechenprogramm in einem Großrechner, in dem die Primärdaten (a) nach automatischer oder manueller Eingabe gespeichert waren***.

*** Dem Department Datenverarbeitung Forschung/Fachbereich Physikochemie und Informatik der Schering AG, sei hier für die Benutzung ihrer Einrichtungen gedankt.

2.4.1.2. Canrenon und Canrenoat

Die Canrenonkonzentration im Plasma wurde in der Dimension µg/ml angegeben, für die im Urin ausgeschiedenen Metabolite die Absolutmenge in mg berechnet.

2.4.2. Statistik

Um einen Überblick über die jeweilige Größenordnung der erzielten Ergebnisse zu erhalten, wurden zunächst für alle Variablen aus den Einzelwerten jeder Gruppe pro Untersuchungszeitpunkt oder -zeitraum die arithmetischen Mittelwerte ($\bar{x}$) sowie die Standardabweichungen der Einzelwerte (s) und der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$) berechnet.

Zur Beurteilung von Wirksamkeitsunterschieden wurden bei den Tierversuchen verschiedene Verfahren angewendet. Für Vergleiche zwischen einzelnen Gruppen wurde wegen teilweise stark voneinander abweichender Varianzen nicht der hierfür i.a. übliche t-Test, sondern einheitlich der U-Test von MANN und WHITNEY (1947) verwendet. Dieses Verfahren setzt nicht eine bestimmte Verteilung der Werte innerhalb der zu vergleichenden Gruppen voraus. Die für dieses Auswertungsverfahren charakteristische Kenngröße für jede Gruppe, der Zentral- oder Medianwert (Z), wurde neben den vorher berechneten arithmetischen Mittelwerten ($\bar{x}$) und ihren Standardabweichungen ($s_{\bar{x}}$) und den Signifikanzangaben in den jeweiligen Tabellen angegeben.

Zur Charakterisierung von Dosiswirkungsbeziehungen wurden für die mit den verschiedenen Präparaten erzielten Ergebnisse Regressionsgerade berechnet. Sofern eine signifikante, lineare Regression, d.h. eine signifikante und bei der gewählten Auftragung (Wirkung: linear, Dosen: logarithmisch) lineare Dosisabhängigkeit des Effekts erkennbar war und die Dosiswirkungsgeraden zweier Präparate als parallel anzusehe

waren, wurde aus ihrem Abstand der Wirksamkeitsunterschied berechnet. Der hierfür charakteristische Wert, die relative Wirksamkeit ("Potency") der Prüfsubstanz im Vergleich zum Standard ist mit ihren 95%-Vertrauensgrenzen in den Ergebnistabellen angegeben. Als statistische Kenngrößen sind außerdem die arithmetischen Mittelwerte ($\bar{x}$) mit ihren Standardabweichungen ($s_{\bar{x}}$) und die nach der Individualanpassung der Einzelwerte an die Regressionsgerade für die eingesetzten Dosen ermittelten Regressionswerte (RW) mit ihren 95%-Vertrauensgrenzen vermerkt.

Bei den humanpharmakologischen Untersuchungen wurde in ähnlicher Weise verfahren, allerdings mußte hierbei die verbundene Prüfanordnung ("Cross over") berücksichtigt werden. Multiple Gruppenvergleiche für die verschiedenen Variablen wurden mit Hilfe der (Ko)Varianzanalyse durchgeführt, wobei ein eventueller Einfluß des jeweiligen Ausgangsniveaus (Vorwert) als Kovariable berücksichtigt wurde. Bei signifikanten Unterschieden zwischen mehreren Gruppen wurde mit einem paarweisen Mittelwertsvergleich (Tukey-Test) geprüft, zwischen welchen Behandlungen im einzelnen eine signifikante Differenz bestand. In den jeweiligen Tabellen sind neben den arithmetischen Mittelwerten für jede Gruppe ($\bar{x}$), der gemeinsamen Standardabweichung (s) und den Signifikanzangaben für die Varianzanalyse, die bei dem paarweisen Vergleich ermittelte Grenzdifferenzen zwischen zwei Mittelwerten angegeben, ab der sich beide signifikant mit 5 oder 1%igem Irrtumsrisiko ($p \leq 0{,}05$, $p \leq 0{,}01$) unterscheiden.

Wie bei den Tierexperimenten wurden auch Dosiswirkungsbeziehungen aufgestellt und beim Nachweis signifikanter, bei logarithmischer Transformation der Dosis linearer und paralleler Dosiswirkungsabhängigkeiten aus dem Abstand der Geraden die jeweiligen Wirksamkeitsunterschiede (Potency mit 95%-Vertrauensgrenzen) ermittelt.

Anders als bei den Rattenversuchen war hier die verbundene Testanordnung (Prüfung aller Behandlungen an denselben Probanden) und ein möglicher Vorwerteinfluß bei der Berechnung der Regressionsgeraden zu berücksichtigen. Auf den Ergebnistabellen sind neben Angaben zur jeweiligen Wirksamkeitsrelation als statistische Kenngrößen $\bar{x}$, s, $s_{\bar{x}}$ und die Regressionswerte (RW) mit ihren 95%-Vertrauensgrenzen angegeben.

Alle diese Berechnungen erfolgten nach ausgearbeiteten Rechenprogrammen oder nach spezieller statistischer Beratung* in elektronischen Rechenanlagen**, z.T. in unmittelbarem Anschluß an die vorausgegangenen Rechnungen (s. 2.4.1.) unter Verwendung der bereits im Rechner gespeicherten Daten.

---

* Herrn Dr. Wiemann, Dept. Biometrie und Statistik, Fachbereich Physikochemie und Informatik der Schering AG, wird an dieser Stelle sehr herzlich für seine Beratung und Mithilfe bei der Planung und Auswertung der Versuche gedankt.

** Dept. Datenverarbeitung Forschung, Fachbereich Physikochemie und Informatik, Schering AG.

. ERGEBNISSE

.1. Untersuchungen an Ratten

Zur Beantwortung der Frage, ob das von CASALS, BUSE und LOSERT (1975) ausgearbeitete Prüfverfahren für Aldosteronantagonisten von adrenalektomierten, mit Glucocorticoiden substituierten Tieren auf intakte Ratten übertragbar ist, wurden vergleichende Untersuchungen an beiden Tierarten durchgeführt. Hierbei wurden die übrigen, standardisierten Versuchsbedingungen konstant gehalten und die im Routineverfahren an adrenalektomierten Ratten ermittelten optimalen Dosen der drei Prüfsubstanzen (CASALS und BUSE, 1976) verwendet.

.1.1. Ergebnisse an adrenalektomierten mit Glucocorticoiden substituierten Tieren.

.1.1.1. Einfluß von Aldosteronantagonisten nach oraler Applikation auf die mineralocorticoide Wirkung von intravenös infundiertem Aldosteron.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind auf den Tabellen 1 - 5 und den Abbildungen 2 - 4 dargestellt. Bei der Angabe der Natrium- und Kaliumgesamtausscheidung wurde eine kumulative Auftragung gewählt (Abb. 2 und 3).

Spironolacton und ZK 62 355 wurden eine Stunde vor Infusionsbeginn in den Dosierungen 6,6 mg, 13,2 mg oder 26,4 mg/kg KG (entsprechend 1, 2 oder 4 mg/Ratte von 150 g KG) bzw. 13,2 mg, 26,4 mg oder 52,8 mg/kg KG (entsprechend 2, 4 oder 8 mg/Ratte von 150 g KG) oral verabreicht. Als Kontrollen dienten nicht behandelte Tiere, die mit oder ohne Aldosteronzusatz eine intravenöse Infusion erhielten. Der Urin wurde fraktioniert in stündlichem Abstand bis zur 6.Std nach Infusionsbeginn gesammelt. Aus vorangegangenen

Vorversuchen mit fünfzehnstündiger Beobachtungsdauer war bekannt, daß ZK 62 355 wie Spironolacton seine maximale Wirkung im Verlauf der ersten sechs Stunden zeigt. Für das beabsichtigte Ziel eines Vergleichs adrenalektomierter Ratten mit intakten Tieren wurde die verkürzte Harnsammelperiode daher als ausreichend betrachtet.

Aldosteron erniedrigte signifikant im Verlauf des sechsstündigen Versuchs die Natriumkonzentration (Tab. 2) bzw. die Natriumausscheidung im Urin (Abb. 2.1.). Im Gegensatz dazu konnte in diesem Experiment keine Änderung der Kaliumausscheidung festgestellt werden (Tab. 3 und Abb. 2.2.). Durch die starke Beeinflussung des Natriums wurden die Na^+/K^+-Quotienten ebenfalls stark gesenkt, so daß bis zur 6.Std der Quotient um den Faktor 4 niedriger lag als bei den Kontrollen ohne Aldosteronzufuhr (Tab. 4). Spironolacton reduzierte dosisabhängig die mineralocorticoide Wirkung des verabreichten Aldosterons. Bei der höchsten Dosierung (26,4 mg/kg) wurde der Hormoneffekt fast vollständig aufgehoben. Sowohl die Natriumausscheidung als auch der Na^+/K^+-Quotient war entsprechend erhöht (Tab. 2 und 4, Abb. 2.1.).

Prinzipiell gleiche Befunde wurden mit dem Spironolactonderivat ZK 62 355 erhoben. Auch diese Substanz zeigte eine dosisabhängige Wirkung; allerdings wurden annähernd gleiche Effekte jeweils erst mit einer doppelt so hohen Dosis wie beim Spironolacton erzielt (Tab. 2 - 4, Abb. 3.1. und 3.2.).

Der aldosteronantagonistische Effekt beider Substanzen erstreckte sich in den gewählten Dosierungen von der 2. bis zur 6. Stunde der Aldosteroninfusion.

Aus den Ergebnissen der Na^+/K^+-Quotienten im Urin wurden für beide Spirolactonderivate, Spironolacton und ZK 62 355, Dosis-wirkungsgeraden berechnet. Von der 2. Stunde an bestanden (bei log. Transformation der Dosen) in beiden Fällen signifikante und lineare Dosiswirkungsbeziehungen. Die Dosiswirkungsgeraden waren parallel; die relative Wirksamkeit von ZK 62 355 betrug im Vergleich zum Spironolacton durchschnittlich 0,45 (= 45 %) (Tab. 5, Abb. 4).

Die Höhe der Harnausscheidung wurde sowohl durch die Zufuhr von Aldosteron als auch durch die zusätzliche Behandlung mit den beiden Aldosteronantagonisten unter den hier verwendeten Versuchs-bedingungen nicht oder nur sehr geringfügig beeinflußt (Tab. 1).

.1.1.2. Einfluß von Kaliumcanrenoat auf die mineralocorticoide Wirkung von Aldosteron bei gleichzeitiger intravenöser Infusion beider Substanzen.

Kaliumcanrenoat wurde intravenös zusammen mit Aldosteron in den Dosierungen 1,32 mg; 2,64 mg oder 5,28 mg/kg/Std (entsprechend 0,2; 0,4 oder 0,8 mg/Tier/Std) während der gesamten Versuchsdauer i.v. infundiert. Die hierbei erhaltenen Ergebnisse gehen aus den Tabellen 6 - 9 und der Abbildung 5 hervor.

Die natriumretinierende Wirkung des Aldosterons war von der 2. Stunde an signifikant nachweisbar. In der 6. Stunde lag die Natriumkonzentration im Urin um den Faktor 13 tiefer als bei den adrenalektomierten Kontrollen (Tab. 7). Bei diesem Versuch war unter der Aldosteroneinwirkung auch ein geringer numerischer und in der 4. Stunde sogar signifikanter Anstieg der Kaliumkonzentration im Urin festzustellen (Tab. 8). Diesen Änderungen der Elektrolyt-konzentrationen entsprachen die Na^+/K^+-Quotienten, die im Verlauf des Versuches unter der Aldosteronbehandlung stark abnahmen (Tab. 9).

In der letzten Stunde der Infusion lag der Na^+/K^+-Quotient der mit Aldosteron behandelten Gruppe um den Faktor 19 niedriger als der der Kontrollen. Mit Ausnahme einer leichten Erniedrigung in der 3. Stunde war kein signifikanter Einfluß des Hormons auf die Wasserausscheidung festzustellen (Tab. 6). Diese vorübergehende Veränderung durfte aber nicht relevant sein, da im übrigen keine Parallelität zur stetig abnehmenden Natriumkonzentration erkennbar war.

Kaliumcanrenoat verminderte in den beiden unteren Dosierungen (1,32 mg und 2,64 mg/kg/Std) von der 3. Stunde an und in der oberen Dosierung (5,28 mg/kg/Std) von der 2. Stunde an die natriumretinierende Wirkung des Aldosterons (Tab. 7). In der dritten und vierten Stunde war dieser Effekt dosisabhängig; die oberste Dosis verhinderte während der gesamten Versuchsdauer die durch Aldosteron bewirkte Natriumretention. Dieser Effekt des Aldosteronantagonisten spiegelt sich auch in den Na^+/K^+-Quotienten wieder, die dosisabhängig von der 2./3. Stunde an durch Kaliumcanrenoat gesteigert wurden (Tab. 9). An diesem Effekt war teilweise (3. und 4. Stunde, oberste Dosis des Aldosteronantagonisten) auch eine Senkung der durch Aldosteron erhöhten Kaliumkonzentration beteiligt (Tab. 8). In dieser Beziehung bestand jedoch keine klare Dosisabhängigkeit der Wirkung. Die Wasserausscheidung wurde bei den Versuchen mit Spironolacton und ZK 62 355 mit zwei wohl als irrelevant anzusehenden Ausnahmen (keine Dosiswirkungsbeziehung) durch Kaliumcanrenoat nicht verändert (Tab. 6).

Die dosisabhängige aldosteronantagonistische Wirkung von Kaliumcanrenoat auf die Natriumelimination stellt sich sehr anschaulich bei kumulativer Auftragung der ausgeschiedenen Natriumionen dar (s. Abb. 5.1.).

Bei den adrenalektomierten Kontrolltieren war die Steigung der Eliminationskurve am steilsten, während die alleinige Zufuhr von Aldosteron ab der zweiten Stunde fast eine horizontal verlaufende Gerade zur Folge hatte. Die Kurven der mit Aldosteron und Kaliumcanrenoat behandelten Tiere lagen entsprechend den verschiedenen Dosierungen dazwischen.

Das Verhalten der Kaliumausscheidung war ähnlich wie bei dem mit den anderen zwei Spirolactonderivaten durchgeführten Versuch uncharakteristisch. Wegen des nur geringfügig steileren Verlaufes der Kurve, die bei reiner Aldosteroninfusion gegenüber den adrenalektomierten Kontrollen ermittelt wurde, war ein deutlicher kaliumretinierender Effekt des Aldosteronantagonisten auch nicht zu erwarten (Abbildung 5.2.).

.2. Untersuchungen an intakten Ratten.

Ergebnisse:

Entsprechend dem Ziel des tierexperimentellen Teils der vorliegenden Arbeit, die Übertragbarkeit des beschriebenen Testverfahrens für Antialdosterone von adrenalektomierten auf intakte Tiere zu überprüfen, wurden die Versuchsbedingungen bei den Experimenten mit nebennierenlosen und normalen Ratten soweit wie möglich konstant gehalten.

In bezug auf die Elektrolyteinfuhr vor dem Beginn der Dauerinfusionen ließ sich diese Einheitlichkeit der Bedingungen jedoch nicht einhalten. In Vorversuchen zeigte sich, daß die Höhe der initialen Natriumausscheidung durch das mit der Nahrung zugeführte Natrium kaum beeinflußt wird. Infolge des relativ hohen Kaliumgehalts des verwendeten Futters war dagegen die Kaliumausscheidung bei "gefütterten" Ratten im Vergleich zu 16 Std nüchternen Tieren deutlich gesteigert.

TABELLE 1: Einfluß von Aldosteronantagonisten auf die Harnausscheidung (ml/Tier/Std) bei adrenalektomierten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion.
[n = 8 Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = p>0,05; *= p≤0,05 gegenüber adrenalektomierten Kontrollen; + = p≤0,05 gegenüber nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	ADRENALEKTOMIERTE, MIT GLUCOCORTICOIDEN SUBSTITUIERTE RATTEN							
				d - A l d o s t e r o n (1 µg / kg / Std, i.v.)					
				S p i r o n o l a c t o n (mg / kg, p.o.)			ZK 62 355 (mg / kg, p.o.)		
				6,6	13,2	26,4	13,2	26,4	52,8
1.	$\bar{x}$	1,90	1,98	3,03	2,80	2,56	2,21	2,28	2,55
	s-	0,33	0,22	0,25	0,32	0,27	0,20	0,20	0,28
	Z^x	1,70	2,00	3,00	2,70	2,50	2,40	1,95	2,65
	Sig.			+					
2.	$\bar{x}$	2,64	3,03	2,85	2,86	2,28	2,43	2,31	2,29
	s-	0,33	0,29	0,13	0,38	0,28	0,23	0,36	0,22
	Z^x	2,75	3,05	2,90	2,35	2,10	2,40	2,30	2,30
	Sig.								
3.	$\bar{x}$	2,24	2,39	2,01	2,23	2,25	2,06	2,23	2,16
	s-	0,34	0,18	0,16	0,19	0,21	0,28	0,37	0,28
	Z^x	2,10	2,50	1,90	2,15	2,20	2,10	2,20	2,45
	Sig.								
4.	$\bar{x}$	2,31	2,34	2,09	2,19	2,06	1,79	2,11	2,11
	s-	0,29	0,35	0,28	0,14	0,26	0,30	0,26	0,23
	Z^x	2,20	2,15	2,35	2,20	1,70	1,60	2,10	1,90
	Sig.								
5.	$\bar{x}$	2,46	2,78	2,55	2,71	2,21	2,73	2,31	2,65
	s-	0,34	0,30	0,36	0,28	0,29	0,37	0,28	0,20
	Z^x	2,75	2,65	2,45	2,80	2,20	2,95	2,20	2,65
	Sig.								
6.	$\bar{x}$	2,23	2,49	2,18	1,96	2,03	1,48	2,56	2,54
	s-	0,29	0,28	0,37	0,19	0,27	0,26	0,22	0,29
	Z^x	2,15	2,20	2,40	2,05	1,80	1,55	2,45	2,15

[n = 8 Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = p>0,05; *= p≤0,05 gegenüber adrenalektomierten Kontrollen; + = p≤0,05 gegenüber nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	ADRENALEKTOMIERTE, MIT GLUCOCORTICOIDEN SUBSTITUIERTE RATTEN							
				d-Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)					
				Spironolacton (mg / kg, p.o.)			ZK 62 355 (mg / kg, p.o.)		
				6,6	13,2	26,4	13,2	26,4	52,8
1.	$\bar{x}$	139,9	105,5	87,3	96,5	108,5	93,4	103,9	94,4
	s	20,75	7,64	4,29	7,17	10,95	7,23	10,07	7,06
	Z^x	114,0	99,0	85,5	97,0	96,0	86,0	93,5	94,0
	Sig.			*			*		
2.	$\bar{x}$	70,6	47,4	50,6	62,5	69,3	58,0	65,3	56,4
	s	6,83	2,38	2,42	7,86	10,26	5,89	8,31	5,32
	Z^x	61,5	47,0	51,5	65,0	62,5	57,5	63,5	57,0
	Sig.		*	*		+			
3.	$\bar{x}$	54,1	30,9	42,8	39,5	61,9	33,4	48,6	56,4
	s	3,34	5,29	4,63	6,21	7,33	4,15	8,67	9,02
	Z^x	54,0	30,0	49,5	36,0	61,0	37,5	45,0	54,0
	Sig.		*			+		*	+
4.	$\bar{x}$	59,5	28,9	30,0	31,4	44,5	32,8	27,7	40,3
	s	9,85	6,57	3,53	5,56	7,78	8,95	3,93	7,12
	Z^x	60,5	26,0	27,0	27,5	45,5	28,0	25,0	38,5
	Sig.		*	*	*		*	*	
5.	$\bar{x}$	58,8	15,3	19,5	24,4	42,4	17,6	23,4	32,3
	s	12,13	3,10	4,27	4,52	6,56	6,85	8,12	5,02
	Z^x	45,0	13,5	15,0	24,5	45,0	12,0	17,5	37,5
	Sig.		*	*	*	+	*	*	+
6.	$\bar{x}$	46,5	8,7	11,5	16,3	34,5	10,3	13,4	24,0
	s	10,76	1,17	2,01	3,32	7,87	3,72	3,39	4,66
	Z^x	34,5	9,0	11,5	17,0	25,5	5,5	11,0	23,0
	Sig.		*	*	*	+	*	*	+

TABELLE 3: Einfluß von Aldosteronantagonisten auf die K^+-Konzentration im Urin (µval/ml) bei adrenalektomierten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion.
[n = 8 Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p>0,05$; *= $p\leq0,05$ gegenüber adrenalektomierten Kontrollen; + = $p\leq0,05$ gegenüber nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	ADRENALEKTOMIERTE, MIT GLUCOCORTICOIDEN SUBSTITUIERTE RATTEN							
				d - Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)					
				Spironolacton (mg / kg, p.o.)			ZK 62 355 (mg / kg, p.o.)		
				6,6	13,2	26,4	13,2	26,4	52,8
1.	$\bar{x}$	30,9	20,4	19,5	22,9	21,8	19,9	23,8	16,9
	s	5,62	1,96	1,67	2,15	1,63	1,77	2,48	2,03
	Z^x	30,0	18,5	20,0	21,0	21,0	22,0	22,0	15,0
	Sig.								*
2.	$\bar{x}$	15,5	20,8	17,8	18,9	14,9	19,5	21,8	12,4
	s	2,28	2,02	1,91	2,15	1,80	2,04	4,22	1,65
	Z^x	14,5	21,5	17,5	18,5	13,0	18,0	20,0	14,5
	Sig.								+
3.	$\bar{x}$	14,0	20,1	18,8	18,4	14,8	21,4	22,6	13,5
	s	1,81	1,29	2,10	2,15	2,18	2,19	2,33	2,66
	Z^x	15,0	20,5	17,5	18,5	14,5	21,0	23,0	10,5
	Sig.		*					*	
4.	$\bar{x}$	18,1	21,8	23,3	21,0	17,3	25,3	23,0	16,5
	s	2,59	2,43	2,11	2,10	1,55	2,34	3,97	1,92
	Z^x	19,0	18,5	22,0	21,0	18,5	24,0	26,0	18,0
	Sig.								
5.	$\bar{x}$	19,7	17,9	26,4	20,9	20,3	22,5	28,0	14,3
	s	3,13	1,38	4,50	1,08	2,40	2,92	2,14	1,37
	Z^x	18,5	17,0	25,5	21,5	20,0	22,5	28,5	14,5
	Sig.				+			+	
6.	$\bar{x}$	18,5	14,7	22,8	20,0	19,1	27,3	26,4	15,6
	s	2,78	1,52	2,45	1,51	1,99	5,76	1,87	1,29
	Z^x								

[n = 6 Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = p>0,05; *= p≤0,05 gegenüber adrenalektomierten Kontrollen; + = p≤0,05 gegenüber nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	ADRENALEKTOMIERTE, MIT GLUCOCORTICOIDEN SUBSTITUIERTE RATTEN							
				d-Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)					
				Spironolacton (mg / kg, p.o.)			ZK 62 355 (mg / kg, p.o.)		
				6,6	13,2	26,4	13,2	26,4	52,8
1.	$\bar{x}$	5,14	5,35	4,67	4,42	5,03	4,82	4,53	5,30
	s	0,69	0,43	0,38	0,48	0,38	0,37	0,49	0,62
	Z^x	4,62	5,05	4,61	4,24	4,97	4,84	4,30	5,45
	Sig.								
2.	$\bar{x}$	5,32	2,49	3,16	3,78	5,14	3,15	3,50	5,32
	s	1,01	0,32	0,43	0,75	0,94	0,35	0,61	0,94
	Z^x	4,42	2,40	3,25	3,10	4,92	3,45	3,15	4,36
	Sig.		*	*		+	*		+
3.	$\bar{x}$	5,17	1,65	2,52	2,54	4,98	1,66	2,36	4,99
	s	1,65	0,39	0,37	0,66	0,90	0,25	0,54	1,03
	Z^x	3,64	1,30	2,69	2,14	4,92	1,74	2,10	4,36
	Sig.		*	*	*	+	*	*	+
4.	$\bar{x}$	3,95	1,25	1,39	1,66	2,84	1,28	1,96	2,73
	s	0,86	0,22	0,23	0,36	0,60	0,32	0,85	0,56
	Z^x	3,67	1,19	1,24	1,43	2,84	0,95	1,40	3,03
	Sig.		*	*	*	+	*	*	+
5.	$\bar{x}$	3,21	0,85	0,76	1,24	2,18	0,78	0,74	2,51
	s	0,51	0,17	0,13	0,29	0,34	0,27	0,20	0,51
	Z^x	2,94	0,80	0,64	1,15	2,00	0,49	0,59	2,65
	Sig.		*	*	*	+	*	*	+
6.	$\bar{x}$	2,49	0,62	0,51	0,87	1,90	0,34	0,48	1,64
	s	0,37	0,10	0,08	0,23	0,40	0,09	0,09	0,35
	Z^x	2,40	0,73	0,47	0,84	1,64	0,26	0,47	1,64
	Sig.		*	*	*	+	*+	*	+

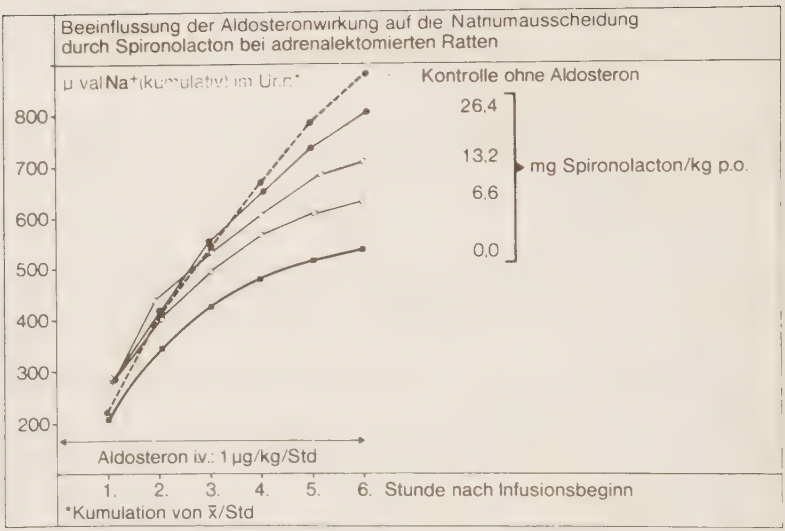


Abbildung 2.2.

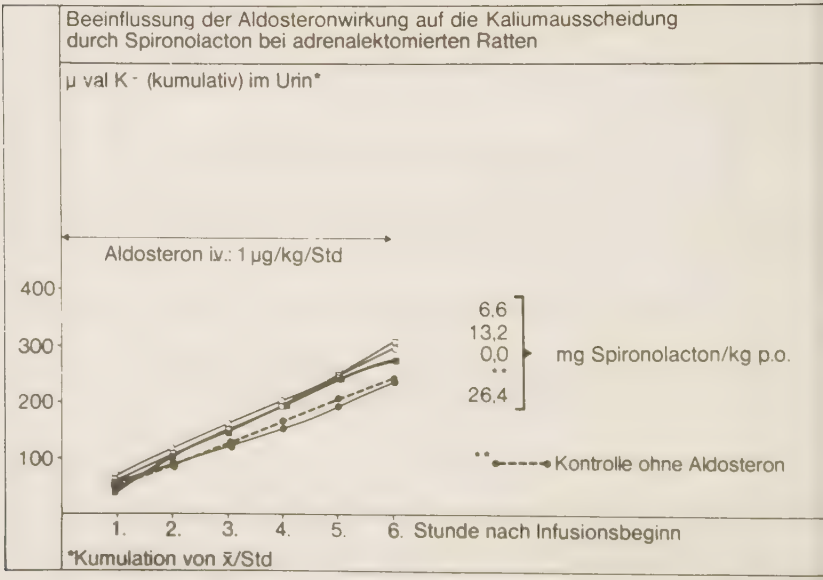


Abbildung 3,1.

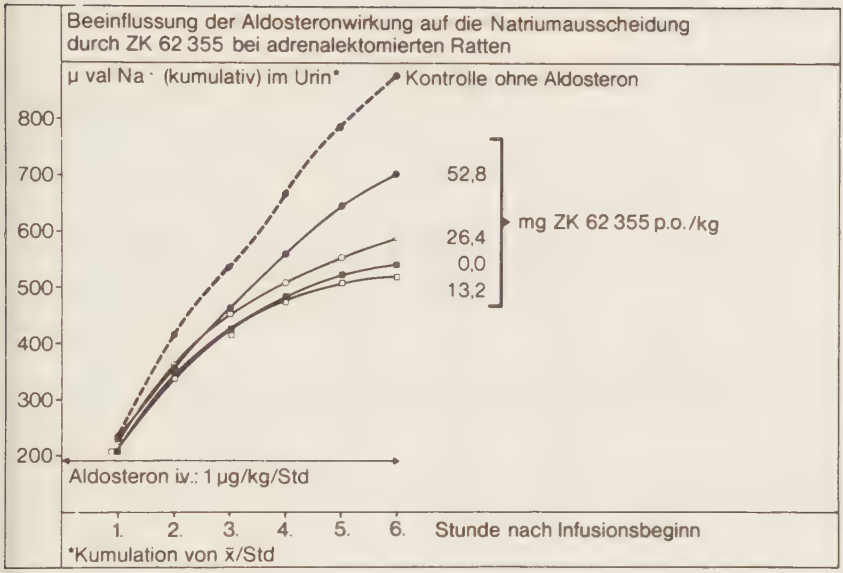


Abbildung 3.2.

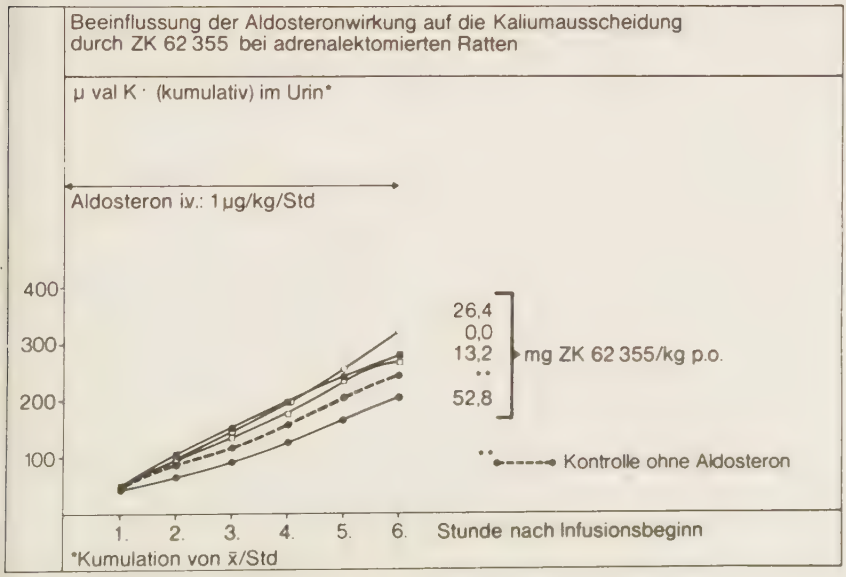
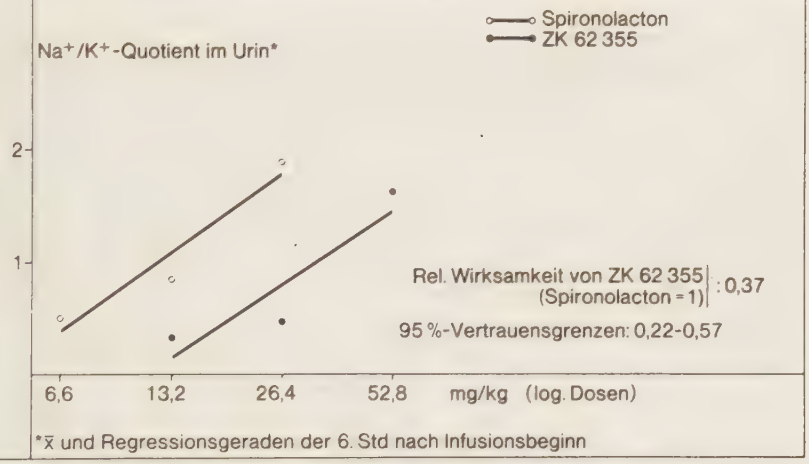


TABELLE 5: Vergleich der antimineralocorticoiden Wirksamkeit (Potency) von ZK 62 355 mit der von Spironolacton anhand der Na^+/K^+-Quotienten im Urin adrenalektomierter Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion
[n = 8 Tiere/Gruppe; Berechnung der Regressionsgeraden bei log. Transformation der Dosen;
RW = Regressionswerte aus der Individualanpassung mit 95 % Vertrauensgrenzen (VG);
Signifikanzangaben: (-) $p > 0,05$, (+) $p \leq 0,05$, (°) stat. Vergleich nicht möglich]

Std.	Stat. Kenngrössen	Spironolacton (mg/kg, p.o.)			ZK 62 355 (mg/kg, p.o.)			Linearität der Dosiswirkungsbeziehungen		Parallelität der Dosiswirkungsgeraden
		6,6	13,2	26,2	13,2	26,4	52,8	Spironolacton	ZK 62 355	
1.	$\bar{x}$	4,67	4,42	5,03	4,82	4,53	5,90			
	RW	-	-	-	-	-	-	(-)	(-)	(°)
	VG	-	-	-	-	-	-			
2.	$\bar{x}$	3,16	3,78	5,14	3,15	3,50	5,32			
	RW	3,03	4,02	5,01	2,90	3,99	5,07	(+)	(+)	(+)
	VG	1,67-4,40	3,16-4,89	3,65-6,38	1,63-4,17	3,18-4,79	3,8-6,34			
3.	$\bar{x}$	2,52	2,54	4,98	1,66	2,36	4,99			
	RW	2,11	3,34	4,57	1,33	3,00	4,66	(+)	(+)	(+)
	VG	0,80-3,43	2,51-4,17	3,25-5,89	0,02-2,64	2,17-3,83	3,35-5,97			
4.	$\bar{x}$	1,39	1,66	2,84	1,28	1,96	2,73			
	RW	1,23	1,96	2,68	1,26	1,93	2,71	(+)	(+)	(+)
	VG	0,43-2,03	1,45-2,46	1,88-3,48	0,18-2,34	1,29-2,68	1,63-3,79			
5.	$\bar{x}$	0,76	1,24	2,18	0,78	0,74	2,51			
	RW	0,68	1,39	2,09	0,48	1,34	2,21	(+)	(+)	(+)
	VG	0,20-1,16	1,08-1,7	1,58-2,6	-0,23-1,19	0,89-1,79	1,49-2,92			
6.	$\bar{x}$	0,50	0,87	1,90	0,34	0,48	1,64			
	RW	0,39	1,09	1,78	0,16	0,82	1,47	(+)	(+)	(+)
	VG	-0,11-0,90	0,76-1,41	1,27-2,29	-0,26-0,6	0,54-1,09	1,03-1,9			

Abbildung 4

Dosisabhängige Steigerung der Na^+/K^+-Quotienten durch Spironolacton und ZK 62 355 bei adrenalektomierten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion



*$\bar{x}$ und Regressionsgeraden der 6. Std nach Infusionsbeginn

TABELLE 6: Einfluß von Kaliumcanrenoat auf die Harnausscheidung (ml/Tier) bei adrenalektomierten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion.

[n = 7 (Adrenalekt. Kontr.: 8) Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = p>0,05; *= p≤0,05 gegenüber adrenalektomierten Kontrollen; + = p≤0,05 gegenüber nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	ADRENALEKTOMIERTE, MIT GLUCOCORTICOIDEN SUBSTITUIERTE RATTEN				
			Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)			
				Kaliumcanrenoat (mg / kg / Std, i.v.)		
				1,32	2,64	5,28
1.	$\bar{x}$	2,33	1,84	1,56	1,54	2,46
	s-	0,20	0,18	0,29	0,38	0,31
	Z^x	2,15	1,90	1,70	1,30	2,30
	Sig.					
2.	$\bar{x}$	2,31	1,93	2,24	3,08	2,33
	s-	0,36	0,16	0,27	0,59	0,27
	Z^x	2,30	1,90	2,50	2,65	2,50
	Sig.					
3.	$\bar{x}$	3,23	2,00	1,76	2,29	2,59
	s-	0,33	0,29	0,20	0,44	0,18
	Z^x	3,25	2,20	1,70	1,80	2,40
	Sig.		*	*		
4.	$\bar{x}$	2,51	2,40	2,04	2,71	2,37
	s-	0,32	0,22	0,19	0,31	0,25
	Z^x	2,45	2,40	1,90	2,90	2,59
	Sig.					
5.	$\bar{x}$	2,63	2,70	2,30	2,63	2,57
	s-	0,25	0,06	0,38	0,50	0,26
	Z^x	2,90	2,70	2,60	1,80	3,00
	Sig.					
6.	$\bar{x}$	3,04	3,44	1,89	3,16	2,21
	s-	0,45	0,34	0,43	0,38	0,28
	Z^x	2,75	3,00	1,70	3,20	2,00
	Sig.			+		+

TABELLE 7: Einfluß von Kaliumcanrenoat auf die Na^+-Konzentration (µval/ml) im Urin bei adrenalektomierten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion.

[n = 7 (Adrenalekt. Kontr.: 8) Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = p>0,05; *= p≤0,05 gegenüber adrenalektomierten Kontrollen; + = p≤0,05 gegenüber nur mit Aldsoteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	ADRENALEKTOMIERTE, MIT GLUCOCORTICOIDEN SUBSTITUIERTE RATTEN				
			Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)			
				Kaliumcanrenoat (mg / kg / Std, i.v.)		
				1,32	2,64	5,28
1.	$\bar{x}$	121,4	109,3	126,3	100,7	104,1
	s-	11,48	13,62	10,23	16,35	4,64
	Z^x	125,5	99,0	116,0	113,0	107,0
	Sig.					
2.	$\bar{x}$	42,5	25,1	32,1	47,0	43,7
	s-	5,68	4,69	5,60	8,66	4,90
	Z^x	38,0	21,0	33,0	46,5	43,0
	Sig.		*			+
3.	$\bar{x}$	26,5	6,4	18,7	22,6	29,3
	s-	3,65	1,17	4,51	3,94	3,17
	Z^x	24,5	7,0	16,0	24,0	30,0
	Sig.		*	+	+	+
4.	$\bar{x}$	23,8	2,6	9,6	19,0	25,0
	s-	2,43	0,68	3,52	3,62	3,82
	Z^x	23,5	3,0	5,0	16,0	21,0
	Sig.		*	*+	+	+
5.	$\bar{x}$	22,8	1,6	13,0	14,6	15,0
	s-	3,02	0,24	7,66	6,17	1,89
	Z^x	24,5	2,0	4,0	7,0	15,0
	Sig.		*	*+	+	+
6.	$\bar{x}$	19,8	1,4	13,7	11,1	23,1
	s-	4,10	0,24	8,40	2,55	6,00
	Z^x	17,0	1,0	6,0	8,0	16,0
	Sig.		*	+	+	+

TABELLE 8: Einfluß von Kaliumcanrenoat auf die K^+-Konzentration (µval/ml) im Urin bei adrenalektomierten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion.

[n = 7 (Adrenalekt. Kontr.: 8) Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0,05$; * = $p \leq 0,05$ gegenüber adrenalektomierten Kontrollen; + = $p \leq 0,05$ gegenüber nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	ADRENALEKTOMIERTE, MIT GLUCOCORTICOIDEN SUBSTITUIERTE RATTEN				
			Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)			
				Kaliumcanrenoat (mg / kg / Std, i.v.)		
				1,32	2,64	5,28
1.	$\bar{x}$	40,6	36,4	37,7	41,9	26,8
	s	5,14	3,32	4,24	5,52	3,44
	Z^x	41,0	42,0	34,0	45,0	23,0
	Sig.					*
2.	$\bar{x}$	24,4	23,0	23,7	30,5	15,6
	s	6,08	2,68	3,22	5,93	0,97
	Z^x	18,8	20,0	21,0	22,5	15,0
	Sig.					+
3.	$\bar{x}$	16,3	23,8	21,9	22,8	14,6
	s	2,23	2,43	2,39	3,15	1,17
	Z^x	15,5	21,0	19,0	21,0	15,0
	Sig.					+
4.	$\bar{x}$	16,5	26,2	21,4	28,6	21,3
	s	2,31	2,73	2,62	5,80	2,71
	Z^x	16,0	29,0	19,0	24,0	23,0
	Sig.		*		*	
5.	$\bar{x}$	16,4	21,9	25,7	22,7	21,3
	s	1,83	1,66	2,39	3,00	3,03
	Z^x	16,0	23,0	27,0	20,0	22,0
	Sig.			*		
6.	$\bar{x}$	17,6	22,0	36,3	21,6	25,9
	s	1,94	1,79	15,56	1,84	3,26
	Z^x	18,5	24,0	23,0	22,0	26,0
	Sig.					*

TABELLE 9: Einfluß von Kaliumcanrenoat auf den Na^+/K^+-Quotienten im Urin bei adrenalektomierten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion.

[n = 7 (Adrenalekt. Kontr.: 8) Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0,05$; * = $p \leq 0,05$ gegenüber adrenalektomierten Kontrollen; + = $p \leq 0,05$ gegenüber nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	ADRENALEKTOMIERTE, MIT GLUCOCORTICOIDEN SUBSTITUIERTE RATTEN				
			Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)			
				Kaliumcanrenoat (mg / kg / Std, i.v.)		
				1,32	2,64	5,28
1.	$\bar{x}$	3,17	3,29	3,50	2,54	4,20
	s_-	0,33	0,68	0,33	0,36	0,46
	Z^x	3,27	3,23	3,39	2,56	4,04
	Sig.					
2.	$\bar{x}$	2,26	1,28	1,34	1,59	2,96
	s_-	0,51	0,41	0,19	0,22	0,48
	Z^x	1,83	0,90	1,26	1,65	2,96
	Sig.		*			+
3.	$\bar{x}$	1,85	0,28	0,82	0,98	2,10
	s_-	0,31	0,06	0,13	0,18	0,32
	Z^x	1,59	0,23	0,64	0,95	1,87
	Sig.		*	*+	+	+
4.	$\bar{x}$	1,61	0,09	0,38	0,69	1,24
	s_-	0,23	0,02	0,11	0,08	0,19
	Z^x	1,60	0,09	0,31	0,57	1,14
	Sig.		*	*+	*+	+
5.	$\bar{x}$	1,45	0,07	0,42	0,58	0,74
	s_-	0,17	0,02	0,22	0,18	0,10
	Z^x	1,54	0,08	0,15	0,36	0,65
	Sig.		*	*+	*+	*+
6.	$\bar{x}$	1,16	0,06	0,28	0,50	0,86
	s_-	0,18	0,02	0,08	0,09	0,14
	Z^x	1,32	0,05	0,23	0,52	0,62
	Sig.		*	*+	*+	+

Abbildung 5.1.

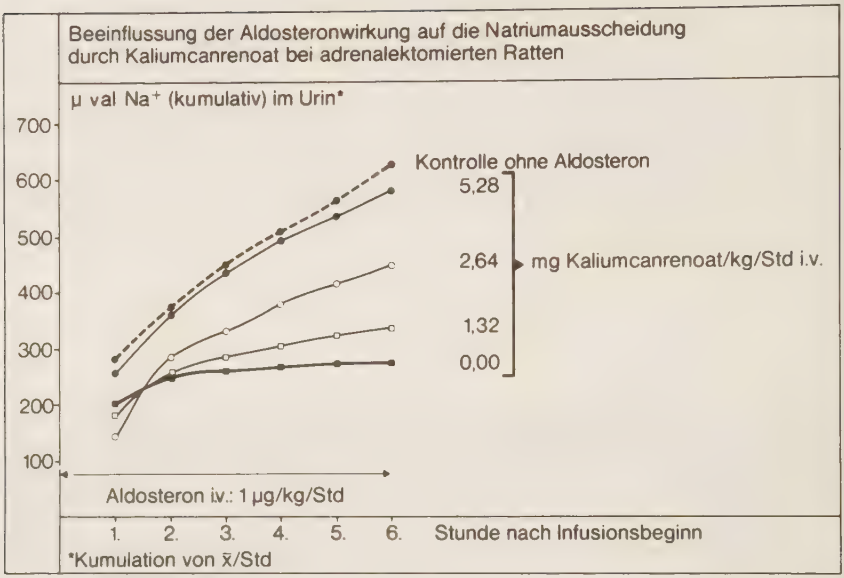
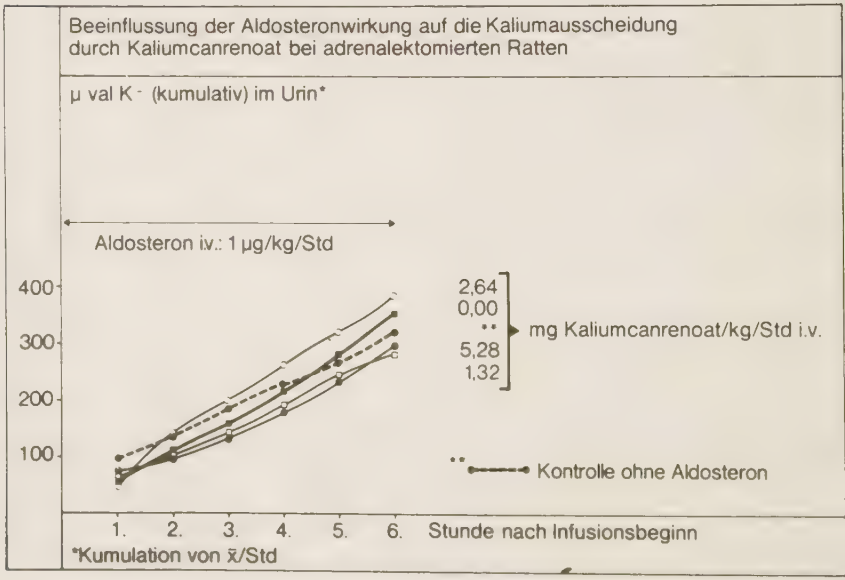


Abbildung 5.2.



Daraus resultierte ein vergleichsweise niedriger Na^+/K^+-Quotient (≤ 1) bei den Ratten, die bis zum Versuchsbeginn Futter aufnehmen konnten (Tab. 10). Um dies zu verhindern und damit die Manifestation der Aldosteronwirkung anhand der weiteren Senkung des bei intakten Tieren ohnehin niedrigeren Na^+/K^+-Quotienten nicht zusätzlich zu erschweren, wurde hier im Gegensatz zu den Experimenten mit adrenalektomierten Ratten das Futter 16 Std vor Versuchsbeginn entzogen.

Ein zunächst auch bei den adrenalektomierten Ratten beabsichtigter Nahrungsentzug am Vorabend erwies sich als nicht praktikabel. Trotz der Glucocorticoidsubstitution wurde von diesen Tieren die 16stündige Hungerperiode i.a. so schlecht vertragen, daß sie wegen ihres schlechten Allgemeinzustandes und der teilweise erheblichen Gewichtsabnahme nicht zu den Infusionsexperimenten herangezogen werden konnten bzw. wegen der zu stark differierenden Gewichte eine einheitliche Dosierung des i.v. infundierten Aldosterons nicht mehr möglich war. Da die Tiere im übrigen zur Verhinderung eines Natriumdefizits 0,9%ige NaCl-Lösung als Trinkflüssigkeit erhielten und wegen der hohen Natriumausscheidung und verminderten Kaliumelimination der Na^+/K^+- Quotient im Urin bei Infusionsbeginn höher lag als bei den intakten Ratten, wurde hier der Einfluß des mit dem Futter zugeführten Kaliums auf die Größe des Na^+/K^+-Quotienten als nicht so gravierend angesehen.

In einem weiteren Vorversuch wurde geprüft, ob intakte Ratten unter den gewählten Versuchsbedingungen grundsätzlich auf eine i.v. Dauerinfusion mit Aldosteron (1µg/kg/Std ≈ 0,15 µg/kg/Tier) mit einer Na^+-Retention und erhöhten K^+-Elimination reagieren wie adrenalektomierte Tiere. Dazu wurde ein Infusionsversuch über 15 Stunden durchgeführt.

Die Ergebnisse gehen aus der Tabelle 11 hervor. Unter Berücksichtigung

der Na^+/K^+-Quotienten war in beiden Fällen, allerdings z.T. mit Unterbrechungen, bis zum Versuchsende eine Aldosteronwirkung festzustellen. Der Effekt bei den intakten Ratten war jedoch insgesamt schwächer ausgeprägt als bei den adrenalektomierten Ratten. Außerdem kam er auf unterschiedliche Weise zustande. Bei den Tieren ohne endogenes Aldosteron stand eine über die gesamte Versuchsdauer deutlich ausgeprägte Natriumretention im Vordergrund, während die Kaliumausscheidung (K^+-Konzentration im Urin) nur vorübergehend leicht erhöht war und gegen Versuchsende sogar gegenüber den Kontrollen signifikant abnahm. Bei den normalen Ratten hatte Aldosteron dagegen nur eine bestenfalls angedeutete Senkung der Natriumkonzentration im Urin zur Folge. Hier stand eine im Laufe der Infusion zunehmend stärker ausgeprägte Erhöhung der Kaliumausscheidung im Vordergrund.

3.1.2.1. Einfluß von Aldosteronantagonisten nach oraler Applikation auf die mineralocorticoide Wirkung von intravenös infundiertem Aldosteron.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen gehen aus den Tabellen 12 - 15 sowie den Abbildungen 6 und 7 hervor.

Wie bei dem auf der Tabelle 11 dargestellten Vorversuch bewirkte die bei adrenalektomierten Ratten gut wirksame Aldosterondosis (1 µg/kg/Std) bei intakten Tieren keine signifikante Natriumretention (Tabelle 13). Die Kaliumkonzentration im Urin zeigte dagegen unter dem Einfluß des Hormons ab der zweiten Stunde eine ansteigende Tendenz; in der 3.Std war diese Veränderung signifikant (Tab. 14). Infolgedessen lagen die mittleren Na^+/K^+-Quotienten numerisch auch unter dem Kontrollniveau, allerdings ohne daß diese Tendenz in einer der sechs Stunden mit einem unter 5 % liegenden Irrtumsrisiko zu sichern gewesen wäre (Tab. 15). Eine gerichtete Tendenz

zur Beeinflussung der Harnausscheidung war nicht zu erkennen (Tab. 12).

Erstaunlicherweise hatte trotz des nahezu fehlenden mineralocorticoiden Effekts des infundierten Aldosterons die Vorbehandlung mit Spironolacton eine deutliche pharmakologische Wirkung. Sie äußerte sich sowohl in einer dosisabhängigen Erhöhung der Na^+-Ausscheidung (Tab. 13; Abb. 6.1.) als auch in einer ebenso dosisabhängigen Kaliumretention (Tab. 14, Abb. 6.2.). Infolgedessen nahmen in entsprechender Weise auch die Na^+/K^+-Quotienten im Urin zu (Tab. 15). Wie die verschiedenen Signifikanzberechnungen zeigen, spielte es hierbei prinzipiell keine Rolle, ob der jeweilige Vergleich gegenüber der Kontrollgruppe oder den mit Aldosteron behandelten Ratten durchgeführt wurde. Ein signifikanter Einfluß von Spironolacton auf die Diurese war nicht festzustellen (Tab. 12).

Da bekannt ist, daß die Wirkung der Spirolactone an die Anwesenheit von Mineralocorticoiden gebunden ist (s. HERKEN, 1969), müssen die beobachteten Spironolactoneffekte auf die Beeinflussung der endogenen Aldosteronaktivität zurückgeführt werden.

Im Gegensatz hierzu bewirkte ZK 62 355 selbst in zweifach höheren Dosierungen als Spironolacton nur geringe Änderungen der Elektrolytkonzentrationen im Urin. In den bei adrenalektomierten Ratten gegenüber infundiertem Aldosteron sehr deutlich wirksamen Dosen hatte ZK 62 355 bei intakten Ratten mit Ausnahme einer vorübergehenden nicht dosisabhängigen und deshalb nicht zu bewertenden Erhöhung in der zweiten Stunde keinen Einfluß auf die Natriumkonzentration im Urin und damit die Natriumausscheidung (Tab. 13, Abb. 7.1.). Für die renale Kaliumelimination gilt entsprechendes. Sofern signifikante Unterschiede gegenüber Kontrollen oder mit Aldosteron behandelten Ratten erkennbar waren, äußerten sie sich sowohl in

paradoxe Steigerungen als auch in geringfügigen Erniedrigungen des Kaliumgehalts im Urin (Tab. 14). In bezug auf die (kumulative) Gesamtausscheidung an Kalium lagen die für die verschiedenen Gruppen ermittelten Kurven eng aufeinander (Abb. 7.2.). Ein Einfluß auf den Harnfluß war ebenfalls nicht festzustellen (Tab. 12).

Als Folge der praktisch fehlenden Wirkung auf die Na^+- und K^+-Ausscheidung hatte ZK 62 355 im Gegensatz zum Spironolacton auch keine deutliche und dosisabhängige Steigerung der Na^+/K^+-Quotienten zur Folge (Tab. 15). Allerdings lagen diese meist numerisch und in einem Fall auch signifikant über den entsprechenden Werten der mit Aldosteron behandelten Ratten.

Sofern rein rechnerisch überhaupt eine lineare Dosiswirkungsbeziehung aufgestellt werden konnte, zeigte sich überwiegend eine minimale Tendenz zu einer mit steigender Dosis abnehmenden Erhöhung des Na^+/K^+-Quotienten. Dieses grundsätzlich unterschiedliche Verhalten gegenüber Spironolacton geht aus den auf der Abbildung 8 dargestellten Kurven hervor. Sie zeigen zugleich, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen im Gegensatz zu adrenalektomierten Tieren ein Wirksamkeitsvergleich von Spironolacton und ZK 62 355 an intakten Ratten nicht möglich ist. Offenbar sind die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Spirolactonderivaten und der endogenen Aldosteronaktivität unterschiedlich.

3.1.2.2. Einfluß von Kaliumcanrenoat auf die Na^+- und K^+-Ausscheidung während einer i.v. Infusion mit oder ohne Zusatz von Aldosteron.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind auf den Tabellen 16 - 19 und den Abbildungen 9 - 10 angegeben.

Wie in den vorhergehenden Experimenten bewirkte Aldosteron in

der Dosis von 1 µg/kg/Std (i.v.) im Vergleich zu den Kontrollen keine Änderung der Na^+- und K^+-Ausscheidung. Kaliumcanrenoat wurde i.v. mit der Infusionslösung sowohl mit als auch ohne gleichzeitigen Zusatz von Aldosteron verabreicht. Nach den Ergebnissen der vorangegangenen Versuche mit Spironolacton schien diese Versuchsanordnung geeignet, einen möglichen Einfluß der Substanz auf die Aktivität des endogenen Mineralocorticoids deutlicher nachzuweisen als bei ausschließlich kombinierter Zufuhr. In Erwartung einer derartigen Wirkung wurde zu ihrer Verdeutlichung die Dosierung gegenüber den Experimenten mit adrenalektomierten Ratten jeweils um eine Dosisstufe erhöht.

Das Harnvolumen wurde wie in den vorangegangenen Versuchen durch Kaliumcanrenoat nicht beeinflußt (Tab. 16).
Wie aus den Tabellen 17 - 19 sowie den Abbildungen 9 und 10 hervorgeht, verhielt sich die Substanz in bezug auf die Elektrolytausscheidung wie Spironolacton; d.h. das Spirolactonderivat bewirkte einen über das jeweilige Kontrollniveau hinausgehenden antimineralocorticoiden Effekt. Während in Anwesenheit von exogenem Aldosteron (1 µg/kg/Std), das selbst nahezu wirkungslos blieb, die Na^+-Konzentration im Urin erst durch die höchste Kaliumcanrenoatdosis (10,56 mg/kg/Std) von der 4. bis 6. Stunde signifikant erhöht wurde, nahm die K^+-Konzentration von der 2. Stunde an bei Infusion der höchsten und ab der 4. Stunde der mittleren Dosis (5,28 mg/kg/Std) signifikant ab (Tab. 17 und 18). Da der kaliumretinierende Effekt stärker ausgeprägt war als die natriumeliminierende Wirkung, kam die auf Tabelle 20 angegebene zeit- und dosisabhängige Steigerung der Na^+/K^+-Quotienten im Vergleich zu den Kontrollen in erster Linie durch die Beeinflussung der Kaliumausscheidung zustande.

Bei alleiniger Verabreichung, d.h. ohne Infusion von Aldosteron, rief Kaliumcanrenoat eine offensichtlich stärkere Wirkung hervor. Schon bei Gabe der mittleren und niedrigen Dosierung (5,28 und 2,64 mg/kg/Std) wurde im Vergleich zu den mit Aldosteron behandelten Tieren die Na^+-Konzentration signifikant erhöht. Die Kaliumkonzentration im Urin wurde - vor allem im Vergleich zu den Kontrollen, aber auch zur Aldosterongruppe - bei Infusion der unteren Kaliumcanrenoatdosis von der 4. Stunde an und bei Zufuhr der beiden oberen Dosen bereits ab der 2. Std vermindert. Die Na^+/K^+-Quotienten verhielten sich entsprechend und waren in allen drei Dosierungen von der 2. oder 3. Stunde an signifikant erhöht (Tab. 17 - 19).

Bei kumulativer Auftragung der ausgeschiedenen Natrium- und Kaliumionen läßt sich sowohl für die Gruppen, die Aldosteron erhielten, als auch für die Tiere, denen nur Kaliumcanrenoat infundiert wurde, die typische Beeinflussung der Elektrolytausscheidung durch den i.v. applizierten Aldosteronantagonisten eindrucksvoll demonstrieren (Abb. 9 und 10). Insbesondere auf Abb. 9.2. ist der mit steigender Dosis zunehmende kaliumretinierende Effekt der Substanz deutlich sichtbar.

Kaliumcanrenoat verhält sich damit an intakten Ratten prinzipiell wie Spironolacton, d.h. auch bei dieser Substanz muß die an intakten Ratten beobachtete Wirkung auf einen Antagonismus gegenüber endogenen Mineralocorticoiden zurückgeführt werden.

TABELLE 10: Einfluß des Fütterungszustandes auf die Na^+- und K^+-Konzentration im Urin intakter Ratten während einer i.v. Dauerinfusion 0,05 %iger NaCl-/5,2 %iger Glucoselösung.

[n = 6 (nüchterne Ratten: 7)Tiere/Gruppe; Infusionsgeschwindigkeit: 5 ml/Tier/Std]

Std	Statist. Kenn-größe	$[Na^+]$ µval/ml Urin		$[K^+]$ µval/ml Urin		$\frac{[Na^+]}{[K^+]}$ (Urin)	
		Futterentzug		Futterentzug		Futterentzug	
		bei Versuchs-beginn	16 Std vor dem Versuch	bei Versuchs-beginn	16 Std vor dem Versuch	bei Versuchs-beginn	16 Std vor dem Versuch
1.	$\bar{x}$	15,3	28,8	32,7	16,0	0,59	1,76
	$s_{\bar{x}}$	±3,0	±5,6	±7,0	±1,9	±0,20	±0,23
2.	$\bar{x}$	20,5	26,6	15,2	13,0	1,31	2,05
	$s_{\bar{x}}$	±5,5	±5,3	±1,3	±0,8	±0,32	±0,38
3.	$\bar{x}$	22,6	29,2	16,4	14,4	1,37	2,17
	$s_{\bar{x}}$	±3,4	±3,7	±1,6	±1,9	±0,16	±0,38
4.	$\bar{x}$	14,5	18,2	14,6	11,1	0,97	1,68
	$s_{\bar{x}}$	±2,3	±3,7	±0,7	±1,4	±0,11	±0,33
5.	$\bar{x}$	12,3	13,7	13,0	7,6	0,94	2,00
	$s_{\bar{x}}$	±2,1	±1,3	±0,6	±1,3	±0,13	±0,32
6.	$\bar{x}$	16,1	13,2	11,5	6,8	1,38	2,07
	$s_{\bar{x}}$	±2,8	±1,5	±0,3	±0,8	±0,22	±0,32

TABELLE 11 Vergleich der mineralocorticoiden Wirkung von d-Aldosteron an adrenalektomierten (mit Glucocorticoiden) substituierten und intakten Ratten bei 15stündiger Dauerinfusion (1 µg/kg/Std ≈ 0,15 µg/Tier/Std) in 0,05 %iger NaCl-/5,2 %iger Glucoselösung.

[n = 7 (Kontrollen: 6) Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): Signifikanz gegenüber den jeweiligen Kontrollen: kein Symbol: p>0,05, (·): p<0,1, (+): p<0,05; [1] Futterentzug bei Versuchsbeginn, 0,9 %ige NaCl-Lösung als Trinkflüssigkeit; [2] Futterentzug 16 Std vor dem Versuch, Leitungswasser als Trinkflüssigkeit].

Std	Stat. Kenngröße	ADRENALEKTOMIERTE RATTEN[1]						INTAKTE RATTEN[2]					
		$[Na^+]$ µval/ml Urin		$[K^+]$ µval/ml Urin		$\frac{[Na^+]}{[K^+]}$ (Urin)		$[Na^+]$ µval/ml Urin		$[K^+]$ µval/ml Urin		$\frac{[Na^+]}{[K^+]}$ (Ur	
		Kontr.	Aldo.	Kontr.	Aldo.	Kontr.	Aldo.	Kontr.	Aldo.	Kontr.	Aldo.	Kontr.	A
1	$\bar{x}$	90,6	66,1	32,8	26,4	2,77	2,63	15,3	8,7	32,8	28,0	0,59	0
	$s_{\bar{x}}$	±25,2	±11,1	±6,5	±3,5	±0,31	±0,50	±3,0	±1,6	±7,0	±1,5	±0,20	±0
	z^x	57,0	67,0	33,0	22,0	3,07	2,46	12,5	8,0	30,0	30,0	0,38	0
2	$\bar{x}$	60,6	28,6	24,6	31,9	2,42	0,94	20,5	12,4	15,2	15,1	1,31	0
	$s_{\bar{x}}$	±18,8(+)	±3,7	±5,4	±2,4	±0,32(+)	±0,18	±5,5	±2,4	±1,3	±1,0	±0,32	±0
	z^x	42,0	29,0	22,0	31,0	2,59	0,92	16,5	10,0	16,5	15,0	0,97	0
3	$\bar{x}$	48,2	10,1	22,0	34,3	2,21	0,37	22,7	18,4	16,5	16,3	1,37	1
	$s_{\bar{x}}$	±7,1(+)	±2,7	±1,6(+)	±2,1	±0,30(+)	±0,07	±3,4	±3,6	±1,6	±0,6	±0,17	±0
	z^x	46,5	9,0	23,0	33,0	2,24	0,32	24,0	15,0	16,0	16,0	1,31	0
4	$\bar{x}$	43,2	8,9	23,5	34,9	1,80	0,27	14,5	13,4	14,6	16,3	0,97	0
	$s_{\bar{x}}$	±6,7(+)	±2,0	±1,5(+)	±2,6	±0,24(+)	±0,07	±2,3	±2,9	±0,7	±0,7	±0,11	±0
	z^x	45,0	7,0	24,5	34,0	1,93	0,19	13,0	11,0	14,5	16,0	0,93	0
5	$\bar{x}$	38,7	10,4	24,0	32,3	1,59	0,33	12,3	13,4	13,0	15,4	0,94	0
	$s_{\bar{x}}$	±6,2(+)	±2,6	±1,0(+)	±1,7	±0,23(+)	±0,09	±2,1	±2,6	±0,6(+)	±0,5	±0,13	±0
	z^x	41,0	10,0	23,0	31,0	1,61	0,29	11,0	10,0	13,2	15,0	0,89	0
6	$\bar{x}$	44,7	14,0	28,3	30,6	1,49	0,47	16,2	14,6	11,6	13,5	1,38	1
	$s_{\bar{x}}$	±12,5(+)	±3,1	±3,6	±1,0	±0,23(+)	±0,11	±2,8	±3,0	±0,3	±0,9	±0,23	±0
	z^x	36,0	17,0	27,0	29,0	1,44	0,51	16,0	14,0	11,4	12,8	1,46	0
7	$\bar{x}$	34,4	14,9	26,0	24,0	1,32	0,66	16,5	16,1	10,2	11,3	1,60	1
	$s_{\bar{x}}$	±4,3(+)	±3,2	±1,8	±1,5	±0,13(+)	±0,15	±2,5	±2,6	±0,9	±0,7	±0,16	±0
	z^x	30,0	18,0	25,0	23,0	1,33	0,75	16,0	15,0	9,6	12,3	1,72	1
8	$\bar{x}$	27,8	14,9	22,6	20,4	1,22	0,77	14,5	15,3	7,4	10,2	1,97	1
	$s_{\bar{x}}$	±3,6(+)	±3,2	±2,2	±1,2	±0,08(+)	±0,14	±1,9	±2,9	±1,0	±1,1	±0,18(+)	±0
	z^x	26,0	18,0	21,0	21,0	1,29	0,88	15,5	13,0	6,9	10,8	1,88	1
9	$\bar{x}$	39,5	26,3	23,3	22,7	1,51	1,07	15,7	18,1	6,2	9,4	2,64	2
	$s_{\bar{x}}$	±14,0(+)	±10,4	±3,7	±5,1	±0,23	±0,18	±1,0	±3,3	±0,8(+)	±0,8	±0,22(·)	±0
	z^x	25,0	17,0	19,0	17,0	1,32	1,13	16,0	15,0	5,9	10,4	2,59	1
10	$\bar{x}$	34,8	13,6	20,0	12,7	1,63	1,20	15,7	16,3	6,5	8,0	2,49	2
	$s_{\bar{x}}$	±9,9(+)	±1,3	±2,1(+)	±1,5	±0,25	±0,20	±1,5	±3,2	±0,5	±0,6	±0,33	±0
	z^x	26,5	15,0	18,5	13,0	1,46	1,30	14,5	14,0	6,5	7,8	2,47	1
11	$\bar{x}$	31,7	11,0	18,8	10,3	1,67	1,16	14,3	18,9	5,1	8,0	2,84	2
	$s_{\bar{x}}$	±5,5(+)	±2,5	±1,5(+)	±1,1	±0,20	±0,28	±1,7	±3,3	±0,3(+)	±0,6	±0,38	±0
	z^x	26,0	11,0	19,0	10,0	1,68	1,00	15,0	16,0	5,2	7,9	2,90	2
12	$\bar{x}$	26,5	8,3	16,2	9,0	1,63	1,09	14,5	15,1	4,3	6,1	3,41	2
	$s_{\bar{x}}$	±3,2(+)	±1,5	±0,9(+)	±1,4	±0,13	±0,24	±1,9	±3,1	±0,4(+)	±0,3	±0,42(+)	±0
	z^x	23,5	6,0	16,0	8,0	1,68	1,00	15,0	12,0	4,2	6,1	3,21	2
13	$\bar{x}$	22,2	7,1	14,5	8,3	1,56	1,03	14,0	15,0	3,8	6,7	3,91	2
	$s_{\bar{x}}$	±2,4(+)	±1,3	±1,6(+)	±1,2	±0,12	±0,26	±1,6	±3,1	±0,4(+)	±0,5	±0,69(+)	±0
	z^x	21,0	6,0	14,0	8,0	1,61	0,88	15,0	12,0	3,6	6,5	3,51	1
14	$\bar{x}$	20,4	5,4	13,4	7,3	1,53	0,81	10,5	11,0	3,4	5,9	3,22	
	$s_{\bar{x}}$	±2,3(+)	±1,6	±1,5(+)	±0,7	±0,13(+)	±0,23	±1,6	± 2,7	±0,3(+)	±0,3	±0,56	±0
	z^x	19,0	6,0	12,0	8,0	1,47	0,87	10,0	9,0	3,5	6,0	3,38	
15	$\bar{x}$	22,8	4,6	15,6	6,3	1,46	0,83	10,7	8,6	2,4	5,0	4,56	
	$s_{\bar{x}}$	±6,6(+)	±1,0	±4,2(+)	±0,8	±0,11(+)	±0,19	±1,1	± 2,1	±0,2(+)	±0,2	±0,68(+)	±0
	z^x	16,0	5,0	13,0	5,0	1,50	1,00	10,0	7,0	2,3	4,9	4,23	

[n = 10 (Kontrollen und Aldosterongruppe: 9)Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0,05$; * = $p \leq 0,05$ gegenüber den Kontrollen; + = $p \leq 0,05$ gegenüber den nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	Intakte Ratten							
				d - A l d o s t e r o n (1 µg / kg / Std, i.v.)					
				S p i r o n o l a c t o n (mg / kg, p.o.)			ZK 62 355 (mg / kg, p.o.)		
				6,6	13,2	26,4	13,2	26,4	52,8
1.	$\bar{x}$	2,71	3,08	2,99	2,49	3,34	3,49	3,10	2,92
	s	0,24	0,34	0,23	0,22	0,20	0,28	0,21	0,17
	Z^x	2,50	3,30	3,30	2,25	3,50	3,55	2,95	3,00
	Sig.								
2.	$\bar{x}$	2,92	2,58	3,04	3,11	3,18	3,09	2,79	2,94
	s	0,25	0,21	0,32	0,32	0,33	0,36	0,23	0,33
	Z^x	2,80	2,50	3,10	2,85	3,10	3,20	2,70	2,75
	Sig.								
3.	$\bar{x}$	2,92	2,92	2,63	2,83	2,86	2,71	2,68	2,59
	s	0,12	0,23	0,14	0,15	0,34	0,19	0,20	0,16
	Z^x	2,90	2,90	2,70	2,90	2,65	2,60	2,55	2,65
	Sig.								
4.	$\bar{x}$	2,66	2,66	2,32	2,34	2,53	2,40	2,26	2,48
	s	0,22	0,14	0,15	0,13	0,20	0,14	0,23	0,17
	Z^x	2,40	2,70	2,30	2,40	2,70	2,45	2,30	2,30
	Sig.								
5.	$\bar{x}$	2,33	2,81	2,42	2,83	2,49	2,35	3,03	2,52
	s	0,08	0,18	0,15	0,27	0,19	0,14	0,21	0,16
	Z^x	2,30	2,70	2,40	2,95	2,55	2,40	2,90	2,40
	Sig.		*					*	
6.	$\bar{x}$	2,69	2,56	2,29	2,10	2,93	2,57	2,50	2,48
	s	0,20	0,24	0,18	0,27	0,26	0,27	0,18	0,13
	Z^x	2,60	2,60	2,15	2,30	2,80	2,50	2,55	2,40
	Sig.								

TABELLE 13 Einfluß von Aldosteronantagonisten auf die Na^+-Konzentration im Urin (µval/ml) bei intakten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion.

[n = 10 (Kontrollen und Aldosterongruppe: 9)Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0,05$; * = $p \leq 0,05$ gegenüber den Kontrollen; + = $p \leq 0,05$ gegenüber den nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	Intakte Ratten							
			d - Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)						
				Spironolacton (mg / kg, p.o.)			ZK 62 355 (mg / kg, p.o.)		
				6,6	13,2	26,4	13,2	26,4	52,8
1.	$\bar{x}$	28,89	29,20	29,92	40,07	49,25	31,97	27,20	36,58
	s-	4,08	2,84	5,64	4,52	8,43	5,32	4,16	6,72
	Z^x	27,00	30,20	25,40	41,85	48,95	31,25	21,45	36,95
	Sig.								
2.	$\bar{x}$	32,19	33,46	41,30	45,59	49,92	51,12	29,24	36,91
	s-	5,01	6,01	7,15	4,05	5,36	4,26	3,96	3,96
	Z^x	34,00	33,50	37,50	45,30	49,25	52,50	30,45	35,75
	Sig.					*	* +		
3.	$\bar{x}$	27,52	27,60	35,81	43,12	45,50	35,31	27,20	22,89
	s-	4,04	4,01	4,96	2,58	5,99	5,03	5,22	5,33
	Z^x	28,30	22,20	29,80	43,30	40,65	42,15	19,65	15,40
	Sig.				* +	*			
4.	$\bar{x}$	21,97	19,10	23,53	29,54	37,18	25,15	25,49	19,33
	s-	3,65	4,90	4,68	3,93	3,85	5,80	4,07	3,21
	Z^x	19,60	15,60	21,10	26,80	34,45	19,15	23,60	21,35
	Sig.					* +			
5.	$\bar{x}$	15,12	16,93	10,58	23,90	28,66	18,83	14,03	17,07
	s-	3,62	4,44	2,33	3,74	4,64	3,85	1,86	3,42
	Z^x	10,40	13,00	10,05	24,55	28,05	18,20	14,50	12,50
	Sig.					*			
6.	$\bar{x}$	11,09	13,74	8,79	22,31	19,83	12,20	15,43	14,27
	s-	2,46	2,99	2,31	3,39	3,33	2,16	1,54	2,79
	Z^x	7,60	13,40	7,85	19,65	16,85	11,95	15,50	11,55

[n = 10 (Kontrollen und Aldosterongruppe: 9)Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0,05$; * = $p \leq 0,05$ gegenüber den Kontrollen; + $p \leq 0,05$ gegenüber den nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	Intakte Ratten							
				d - A l d o s t e r o n (1 µg / kg / Std, i.v.)					
				S p i r o n o l a c t o n (mg / kg, p.o.)			ZK 62 355 (mg / kg, p.o.)		
				6,6	13,2	26,4	13,2	26,4	52,8
1.	$\bar{x}$	27,46	23,83	19,71	21,92	13,61	21,62	22,87	23,63
	$s_{\bar{x}}$	1,91	2,33	3,17	2,56	2,58	2,19	1,76	1,35
	Z^x	26,30	21,40	17,30	22,55	15,35	20,50	21,45	25,05
	Sig.			*		* +			
2.	$\bar{x}$	21,61	26,89	20,19	16,90	13,35	28,84	28,44	30,24
	$s_{\bar{x}}$	1,78	3,17	2,91	1,81	2,38	3,26	3,04	2,61
	Z^x	21,80	23,50	19,75	14,90	12,75	27,25	26,85	29,05
	Sig.					* +			*
3.	$\bar{x}$	18,38	23,90	19,27	12,96	11,65	23,01	23,37	23,91
	$s_{\bar{x}}$	1,81	1,57	1,92	1,13	1,44	1,28	2,59	2,03
	Z^x	16,80	24,90	20,50	13,70	10,80	22,50	21,20	22,45
	Sig.		*		* +	* +	*		*
4.	$\bar{x}$	17,08	19,62	17,51	8,23	9,13	16,18	18,69	16,97
	$s_{\bar{x}}$	1,92	1,73	2,56	1,12	1,43	2,24	2,75	1,37
	Z^x	15,80	20,60	14,50	7,45	7,45	14,65	14,85	16,40
	Sig.				* +	* +			
5.	$\bar{x}$	13,91	16,19	11,69	6,81	7,06	12,03	9,91	10,22
	$s_{\bar{x}}$	1,69	1,64	1,10	1,08	1,42	2,23	1,33	0,93
	Z^x	12,20	16,70	11,55	6,90	4,65	9,20	8,90	10,40
	Sig.			+	* +	* +		+	+
6.	$\bar{x}$	10,68	13,40	13,67	8,52	6,94	9,18	8,82	8,51
	$s_{\bar{x}}$	1,24	1,04	1,93	1,39	2,25	1,40	0,99	1,27
	Z^x	11,30	13,20	13,35	7,15	3,50	8,45	8,60	6,40
	Sig.				+	+	+	+	+

TABELLE 15 Einfluß von Aldosteronantagonisten auf den Na^+/K^+-Quotienten im Urin bei intakten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion.

[n = 10 (Kontrollen und Aldosterongruppe: 9)Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0,05$; * = $p \leq 0,05$ gegenüber den Kontrollen; + = $p \leq 0,05$ gegenüber den nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	Intakte Ratten							
			d-Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)						
				Spironolacton (mg / kg, p.o.)			ZK 62 355 (mg / kg, p.o.)		
				6,6	13,2	26,4	13,2	26,4	52,8
1.	$\bar{x}$	1,13	1,36	1,82	1,96	5,10	1,50	1,18	1,57
	s-	0,20	0,24	0,38	0,23	1,22	0,20	0,14	0,26
	Z^x	0,97	1,27	1,82	1,77	3,95	1,54	1,12	1,71
	Sig.				*	* +			
2.	$\bar{x}$	1,49	1,26	2,08	2,97	5,50	2,07	1,08	1,26
	s-	0,23	0,22	0,28	0,35	1,43	0,40	0,15	0,13
	Z^x	1,43	1,20	1,84	3,07	4,55	1,91	0,85	1,17
	Sig.				* +	* +			
3.	$\bar{x}$	1,56	1,21	1,99	3,54	5,68	1,52	1,18	0,93
	s-	0,24	0,21	0,34	0,32	2,18	0,21	0,19	0,19
	Z^x	1,74	1,27	1,57	3,48	3,27	1,65	1,02	0,62
	Sig.				* +	* +			
4.	$\bar{x}$	1,42	0,98	1,31	3,82	4,98	1,47	1,43	1,14
	s-	0,28	0,27	0,20	0,43	0,85	0,20	0,17	0,18
	Z^x	1,14	0,90	1,23	3,69	4,36	1,65	1,33	1,08
	Sig.				* +	* +			
5.	$\bar{x}$	1,17	1,01	0,86	4,09	4,74	1,59	1,52	1,62
	s-	0,25	0,28	0,17	0,62	0,69	0,24	0,19	0,25
	Z^x	0,64	0,78	0,82	3,88	4,66	1,58	1,44	1,47
	Sig.				* +	* +			
6.	$\bar{x}$	1,13	1,10	0,58	3,15	4,35	1,44	1,98	1,90
	s-	0,24	0,31	0,09	0,66	0,80	0,23	0,30	0,48
	Z^x	0,65	0,89	0,62	2,81	3,91	1,45	1,77	1,47

Abbildung 6.1

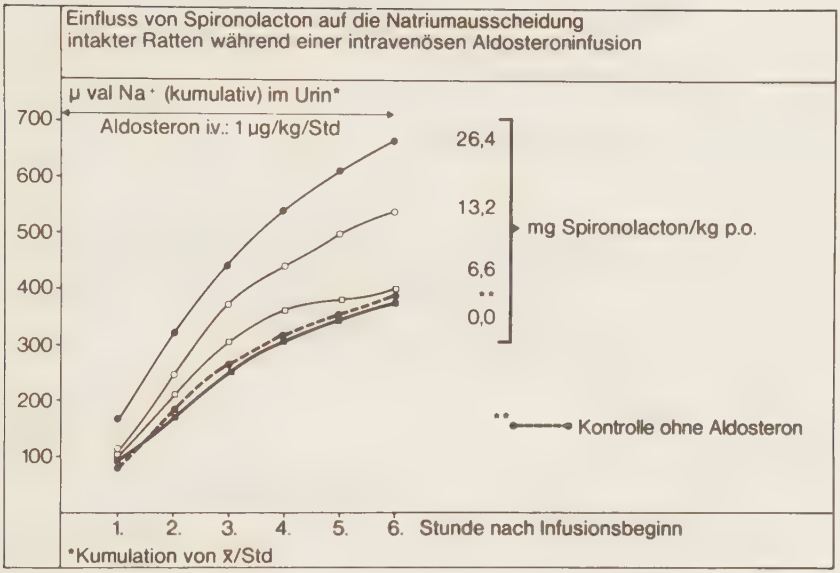
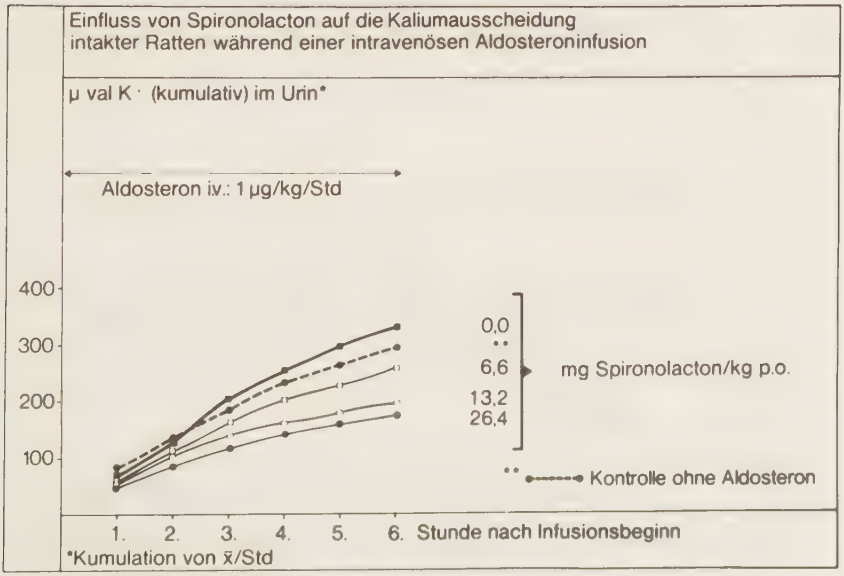


Abbildung 6.2.



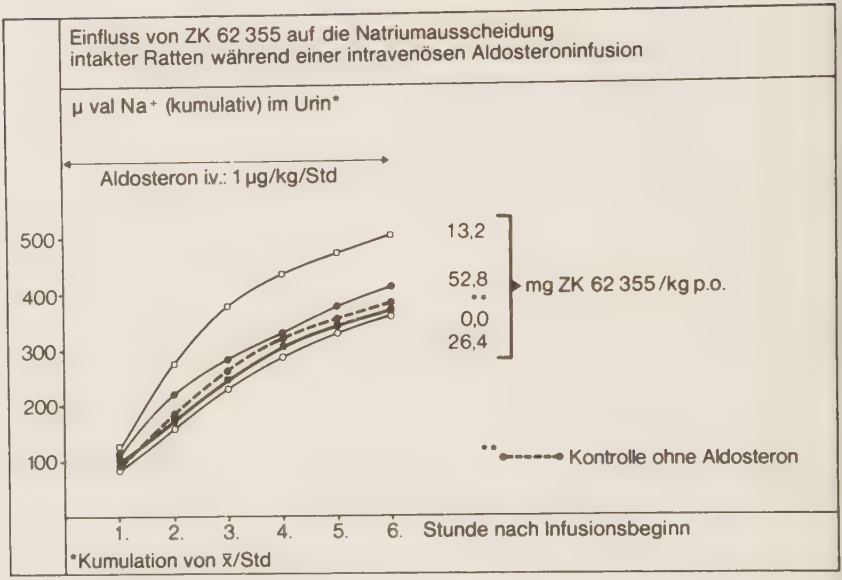


Abbildung 7.2.

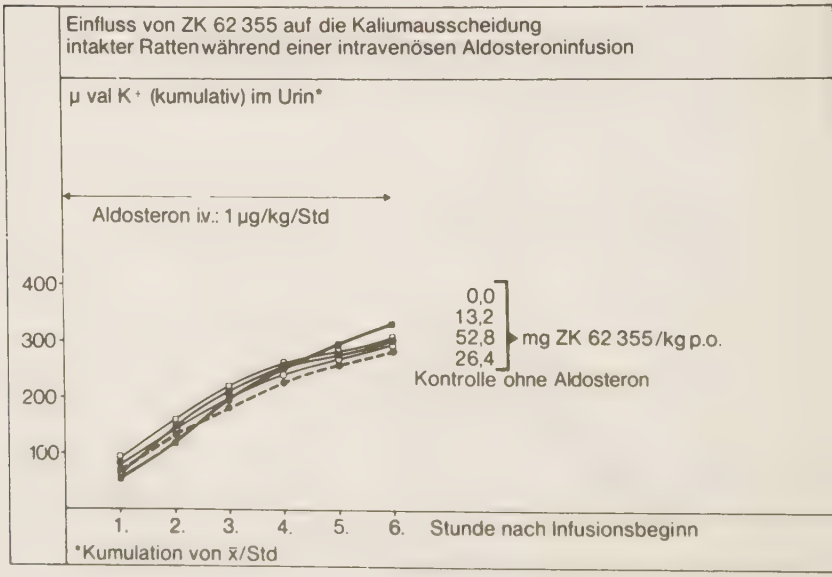


Abbildung 8

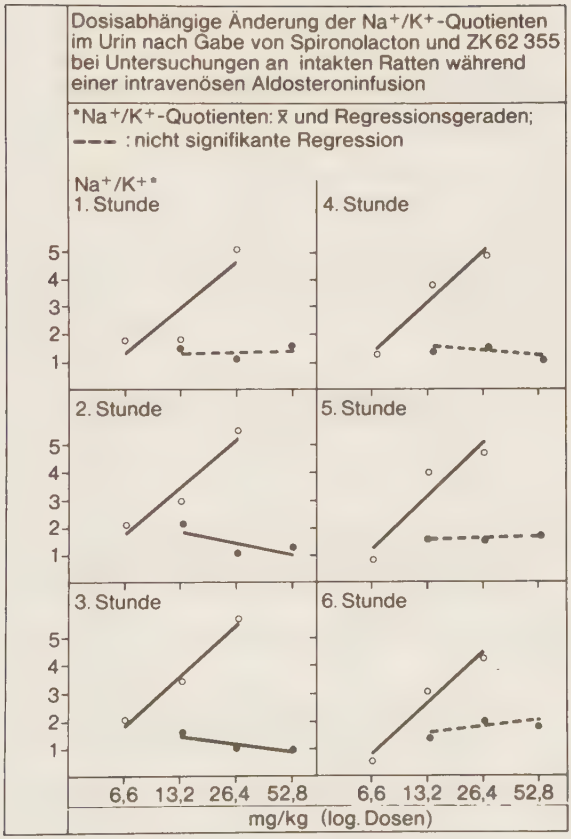

Dosisabhängige Änderung der Na+/K+-Quotienten im Urin nach Gabe von Spironolacton und ZK 62 355 bei Untersuchungen an intakten Ratten während einer intravenösen Aldosteroninfusion
•Na+/K+-Quotienten: x̄ und Regressionsgeraden;
--- : nicht signifikante Regression
Na+/K+•
1. Stunde
4. Stunde
2. Stunde
5. Stunde
3. Stunde
6. Stunde
5
4
3
2
1
6,6 13,2 26,4 52,8
6,6 13,2 26,4 52,8
mg/kg (log. Dosen)

TABELLE 16: Einfluß von Kaliumcanrenoat (i.v.) auf die Harnausscheidung (ml/Tier/Std) bei intakten Ratten während einer intravenösen Infusion mit oder ohne Zusatz von Aldosteron.

[n = 10 bzw. 9[1)] Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0,05$; * = $p \leq 0,05$ gegenüber den Kontrollen; + = $p \leq 0,05$ gegenüber den nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	INTAKTE RATTEN							
			d-Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)						
				Kaliumcanrenoat (mg / kg / Std, i.v.)					
				2,64	5,28[1)]	10,56[1)]	2,64[1)]	5,28	10,56
1.	$\bar{x}$	2,90	2,32	3,20	2,82	2,97	2,59	3,07	3,02
	s-	0,35	0,21	0,42	0,25	0,19	0,25	0,47	0,19
	z^x	3,05	2,35	3,00	2,70	2,80	2,80	3,60	2,95
	Sig.								+
2.	$\bar{x}$	3,21	3,35	3,68	3,83	3,34	3,41	3,65	3,84
	s-	0,34	0,26	0,36	0,39	0,23	0,21	0,36	0,24
	z^x	2,80	3,15	3,70	3,80	3,10	3,30	3,35	3,90
	Sig.								
3.	$\bar{x}$	2,80	2,47	2,81	2,72	3,07	2,54	2,67	2,97
	s-	0,15	0,24	0,24	0,18	0,26	0,11	0,19	0,25
	z^x	2,80	2,20	2,85	2,90	3,00	2,50	2,50	2,70
	Sig.								
4.	$\bar{x}$	2,39	2,03	2,10	2,26	2,52	2,34	2,40	2,35
	s-	0,24	0,15	0,13	0,12	0,25	0,13	0,15	0,22
	z^x	2,30	2,05	2,10	2,30	2,55	2,40	2,50	2,50
	Sig.								
5.	$\bar{x}$	2,11	2,40	2,42	2,59	2,87	2,41	2,47	2,55
	s-	0,23	0,20	0,22	0,15	0,17	0,14	0,07	0,27
	z^x	1,85	2,10	2,40	2,60	3,05	2,20	2,50	2,30
	Sig.					*			
6.	$\bar{x}$	3,02	2,88	3,07	3,20	3,05	2,99	3,16	2,80
	s-	0,14	0,21	0,41	0,21	0,10	0,23	0,26	0,17

[n = 10 bzw. 9[1)] Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0{,}05$; * = $p \leq 0{,}05$ gegenüber den Kontrollen; + = $p \leq 0{,}05$ gegenüber den nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	INTAKTE RATTEN							
			d-Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)						
				Kaliumcanrenoat (mg / kg / Std, i.v.)					
				2,64	5,28[1)]	10,56[1)]	2,64[1)]	5,28	10,56
1.	$\bar{x}$	24,64	29,25	33,17	23,00	26,39	31,83	42,03	28,90
	s-	4,82	4,72	6,44	2,78	4,87	4,03	9,50	3,93
	$\tilde{x}$	23,40	24,85	30,05	21,30	25,50	33,50	35,10	35,35
	Sig.								
2.	$\bar{x}$	47,19	43,90	55,30	54,78	47,03	51,03	55,33	60,33
	s-	6,10	7,23	8,61	4,76	6,67	5,21	8,91	4,67
	$\tilde{x}$	51,10	47,00	58,50	54,50	42,75	50,00	61,35	60,80
	Sig.								
3.	$\bar{x}$	38,16	37,18	43,57	45,92	44,26	47,82	46,25	56,77
	s-	4,89	5,65	3,95	3,93	3,47	4,27	5,57	5,03
	$\tilde{x}$	38,75	40,55	40,80	42,90	42,40	43,90	51,60	57,85
	Sig.								*+
4.	$\bar{x}$	27,01	24,55	27,90	28,01	41,00	31,73	30,15	49,72
	s-	2,93	3,36	3,53	3,33	3,98	2,95	4,90	4,27
	$\tilde{x}$	26,10	26,80	27,30	28,50	37,70	30,90	26,60	49,20
	Sig.					*+			*+
5.	$\bar{x}$	16,19	9,95	12,83	17,96	28,09	19,90	18,04	35,40
	s-	3,40	1,73	2,07	2,96	2,55	2,39	2,51	2,61
	$\tilde{x}$	15,30	8,60	13,20	16,40	28,50	19,90	16,10	35,90
	Sig.					*+	+	+	*+
6.	$\bar{x}$	10,37	9,32	10,28	13,99	24,88	14,96	16,64	29,43
	s-	1,82	2,85	1,69	1,68	2,35	1,56	1,84	2,52
	$\tilde{x}$	10,95	6,25	10,20	14,10	24,65	14,60	16,00	28,65
	Sig.					*+	+	+	*+

TABELLE. 18: Einfluß von Kaliumcanrenoat (i.v.) auf die K^+-Konzentration im Urin (µval/ml) bei intakten Ratten während einer intravenösen Infusion mit oder ohne Zusatz von Aldosteron.

[n = 10 bzw. 9[1]) Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0,05$; * = $p \leq 0,05$ gegenüber den Kontrollen; + = $p \leq 0,05$ gegenüber den nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	INTAKTE RATTEN							
			d-Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)						
				Kaliumcanrenoat (mg / kg / Std, i.v.)					
				2,64	5,28[1])	10,56[1])	2,64[1])	5,28	10,56
1.	$\bar{x}$	31,69	30,06	26,86	20,99	20,29	26,70	37,00	26,11
	s-	8,25	3,89	2,82	2,56	2,26	2,21	10,94	3,07
	Z^x	20,55	26,70	27,05	21,50	19,50	25,80	23,10	25,65
	Sig.								
2.	$\bar{x}$	27,42	24,65	22,20	22,54	16,33	23,09	18,27	17,71
	s-	2,75	1,57	2,65	2,27	1,16	1,51	1,40	1,74
	Z^x	26,65	23,75	19,90	23,00	14,60	22,90	19,80	17,30
	Sig.					*+		*+	*+
3.	$\bar{x}$	22,36	26,65	22,63	22,54	12,65	22,16	17,10	17,37
	s-	1,49	1,58	1,57	1,40	0,84	1,07	0,99	1,69
	Z^x	22,15	24,65	22,80	23,10	11,50	21,90	18,00	18,00
	Sig.					*+		*+	*+
4.	$\bar{x}$	22,54	24,39	21,90	16,99	13,73	15,51	14,85	17,62
	s-	2,53	1,35	1,98	1,48	2,08	0,97	1,66	2,49
	Z^x	21,95	23,75	21,10	16,40	12,00	16,90	13,65	14,65
	Sig.				+	*+	*+	*+	+
5.	$\bar{x}$	15,65	17,63	14,68	11,54	8,06	9,31	8,70	12,32
	s-	1,64	0,96	1,53	1,67	1,15	0,80	1,73	2,41
	Z^x	17,55	18,50	13,60	10,00	7,50	8,30	7,55	9,70
	Sig.			+	+	*+	*+	*+	+
6.	$\bar{x}$	11,62	11,15	9,85	7,42	5,12	5,57	5,57	6,58
	s-	0,82	1,05	0,98	1,20	0,82	0,28	1,16	1,28

[n = 10 bzw. 9[1)] Tiere/Gruppe; Statistik (U-Test): kein Symbol = $p > 0{,}05$; * = $p \leq 0{,}05$ gegenüber den Kontrollen; + = $p \leq 0{,}05$ gegenüber den nur mit Aldosteron behandelten Tieren]

Std	Stat. Kenngrößen, Signif.	INTAKTE RATTEN							
			d-Aldosteron (1 µg / kg / Std, i.v.)						
				Kaliumcanrenoat (mg / kg / Std, i.v.)					
				2,64	5,28[1)]	10,56[1)]	2,64[1)]	5,28	10,56
1.	$\bar{x}$	0,96	1,01	1,39	1,23	1,40	1,21	1,48	1,20
	s-	0,18	0,17	0,33	0,20	0,23	0,15	0,21	0,18
	Z^x	0,69	0,83	0,94	1,07	1,37	1,43	1,51	1,17
	Sig.								
2.	$\bar{x}$	1,89	1,86	2,91	2,61	3,04	2,30	3,09	3,63
	s-	0,32	0,32	0,55	0,33	0,53	0,30	0,54	0,39
	Z^x	1,85	1,94	2,98	2,67	2,65	2,13	2,94	3,73
	Sig.								*+
3.	$\bar{x}$	1,67	1,44	2,06	2,06	3,57	2,17	2,89	3,39
	s-	0,16	0,21	0,28	0,18	0,28	0,18	0,55	0,26
	Z^x	1,72	1,66	1,84	2,08	3,66	2,20	2,62	3,37
	Sig.					*+	+	*+	*+
4.	$\bar{x}$	1,26	1,02	1,33	1,68	3,47	2,13	2,23	3,18
	s-	0,12	0,15	0,19	0,20	0,45	0,26	0,42	0,38
	Z^x	1,29	1,01	1,35	1,65	3,25	2,30	2,16	3,15
	Sig.				+	*+	*+	*+	*+
5.	$\bar{x}$	1,03	0,58	0,97	1,64	4,12	2,22	2,55	3,61
	s-	0,16	0,10	0,21	0,23	0,65	0,31	0,53	0,48
	Z^x	0,98	0,50	0,81	1,66	3,87	2,03	1,99	3,73
	Sig.				+	*+	*+	*+	*+
6.	$\bar{x}$	0,86	0,81	1,08	2,37	5,73	2,68	4,64	6,15
	s-	0,11	0,21	0,15	0,62	0,87	0,26	1,59	1,17
	Z^x	0,85	0,61	1,06	1,60	5,96	2,40	3,64	5,59
	Sig.				*+	*+	*+	*+	*+

Abbildung 9.1.

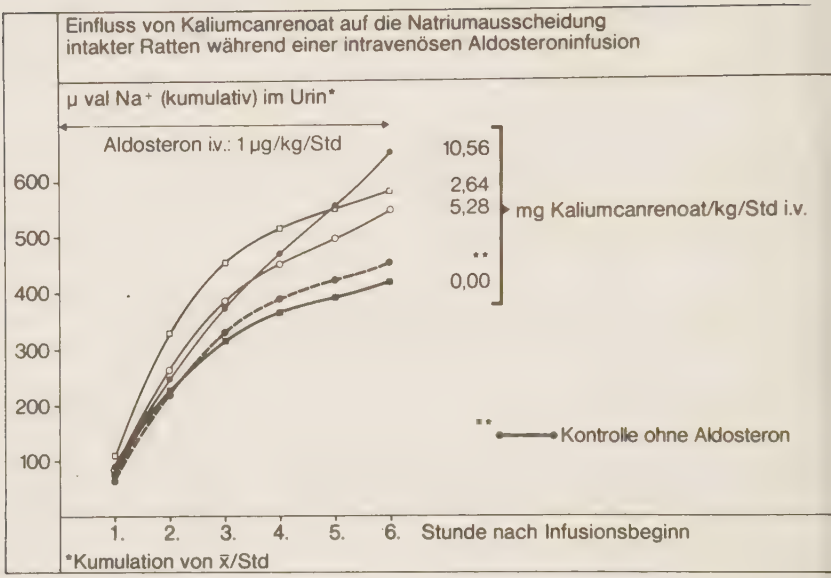


Abbildung 9.2.

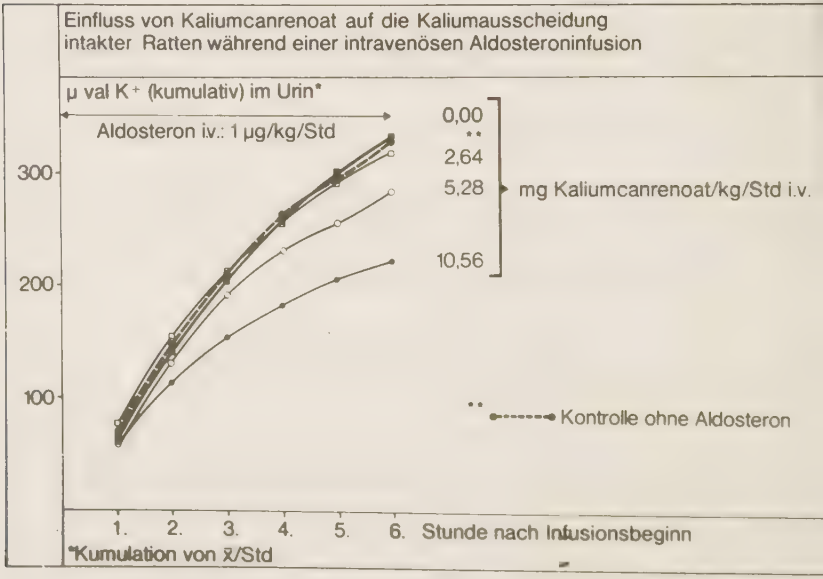


Abbildung 10.1.

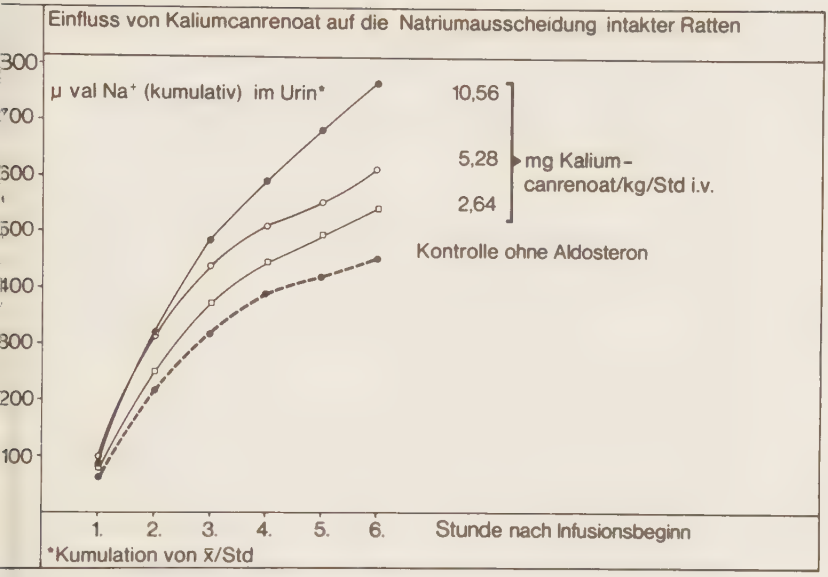
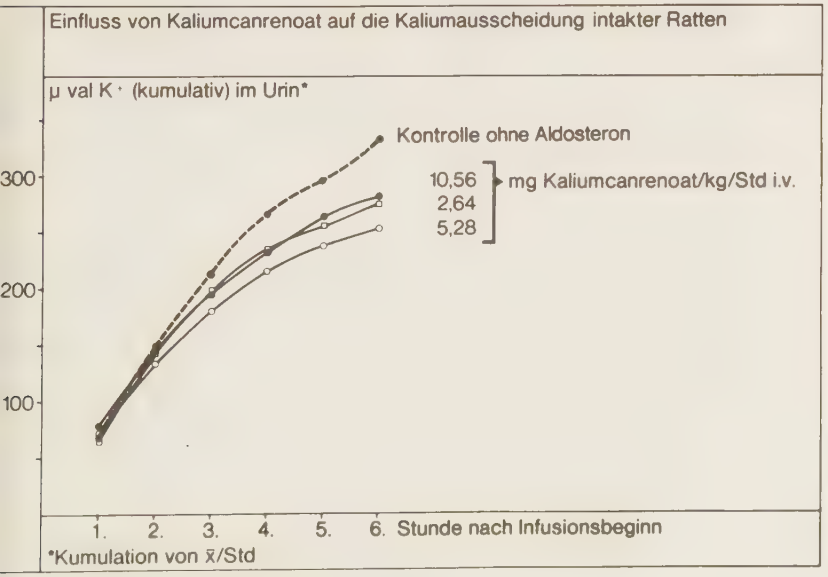


Abbildung 10.2.



3.2. Untersuchungen an gesunden Probanden

3.2.1. Voruntersuchungen zur Ermittlung geeigneter Aldosteron- und Antialdosterondosen

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind auf den Tabellen 20 - 26 angegeben.

3.2.1.1. Elektrolyt- und Wasserausscheidung bei intravenöser und oraler Flüssigkeitsbelastung

Unabhängig von der Ermittlung geeigneter Aldosteron- bzw. Antialdosterondosen mußte zunächst die Harn-, Natrium- und Kaliumausscheidung gesunder Probanden während einer intravenösen und gleichzeitigen oralen Flüssigkeitsbelastung untersucht werden. Diese Voruntersuchung fand an zwei Probanden statt.

Für die i.v. Belastung wurde in weitgehender Analogie zu den vorangegangenen Tierversuchen eine isotonische (5,2 %ige) Glucose-Lösung, die zusätzlich 13,4 mval KCl/l enthielt, mit einer Infusionsgeschwindigkeit von 250 ml/Std infundiert. Zur oralen Wasserbelastung tranken die Probanden "Birresborner" Mineralwasser in Portionen von 250 ml/30 min (Tab. 20).

Die stündlich ausgeschiedene Harnmenge erreichte ab der 3. Std annähernd ihr Maximum. Es lag in einem Fall in der gleichen Größenordnung wie die Einfuhr (intravenös + oral), beim zweiten Probanden etwas darunter. Zwei Stunden nach dem Abbruch der i.v. Infusion und oralen Wassereinnahme nahm die Harnausscheidung stark ab.

Die Konzentration und Ausscheidung von Natrium- und Kaliumionen im Urin waren während der sechsstündigen Infusionsphase keinen großen Schwankungen unterworfen, und lagen in einem Bereich von 15 - 30 mval Na^+/l und 5 - 13 mval K^+/l.

Nach der ersten Infusionsstunde und zwei Std nach Infusionsabbruch waren die Elektrolytwerte noch bzw. wieder höher als während der Infusion.

Entsprechend verhielten sich die Na^+/K^+-Quotienten, die im Verlauf der Untersuchung leicht anstiegen, aber von einem durchschnittlichen Wert von 4,0 - 4,5 nicht wesentlich abwichen.

3.2.1.2. Ermittlung einer geeigneten Mineralocorticoiddosierung

Zu diesem Zweck erhielten je zwei Probanden zwei Aldosterondosen, deren Gesamtmenge sich um den Faktor 7 voneinander unterschied. Zunächst wurde in Anlehnung an publizierte Befunde (PAUNIER, BORGEAUD und WYSS, 1972: 4 mg in 2 Std) eine verhältnismäßig hohe Dosierung verwendet. Unmittelbar vor Beginn der i.v. Infusion erfolgte eine i.v. Injektion von 0,5 mg Aldosteron. Anschließend wurden mit der Infusionslösung weitere 0,5 mg/Proband/Std während der 6-stündigen Infusion zugeführt. Damit betrug nach Beendigung des Versuches die applizierte Gesamtdosis 3,5 mg Aldosteron/Proband (Tab. 21).

In einer nachfolgenden Untersuchung an weiteren zwei Probanden wurde das Hormon erheblich geringer dosiert (0,5 mg Gesamtdosis) und mit der sechs Std dauernden i.v. Infusion (83,3 µg/Std.) verabreicht (Tab. 22).

Beide Behandlungen führten zu den gleichen Ergebnissen: Von der 2. Stunde an stellte sich wie bei den Experimenten an adrenalektomierten Ratten im Vergleich zu den vorausgegangenen Kontrolluntersuchungen (siehe Tab. 20) ein deutlicher natriumretinierender Effekt bis zum Ende der Beobachtung nach 8 Std ein. Eine Wirkung auf die Wasser- und K^+-Ausscheidung war nicht erkennbar. Infolge der starken Abnahme der Na^+-Konzentration im Urin wurden auch die Na^+/K^+-Quotienten von der 2.Std an gesenkt, wobei die minimal erreichten Werte weit unter 1,0 lagen.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde für die nachfolgende Hauptstudie die niedrigere Aldosterondosis (0,5 mg/Proband) als Standardbehandlung festgelegt, da angenommen werden konnte, daß bei Zufuhr geringerer Mineralocorticoidmengen der antagonistische Effekt eines Aldosteronantagonisten deutlicher darzustellen wäre.

Auch die orale Wasserbelastung wurde in den nachfolgenden Untersuchungen aus Praktikabilitätsgründen um 1/3 reduziert. In den ersten beiden Stunden der Untersuchung erhielten die Probanden weiterhin 250 ml/30 min während in den weiteren 4 Stunden nur noch 250 ml/Std verabreicht wurden.

.2.1.3. Ermittlung einer geeigneten Spironolactondosierung

Es wurde davon ausgegangen, daß zur vollständigen Aufhebung der Wirkung von 83,3 µg Aldosteron/Proband/Std eine etwa 1000-fach höhere Dosis des Aldosteronantagonisten eingesetzt werden mußte (HOLLMANN, SENFT und WERNER, 1964; s. HERKEN, 1969). Aus diesem Grunde wurden Dosierungen von 100 und 400 mg Spironolacton/Proband p.o. gewählt. Jeweils zwei Probanden erhielten diese Dosen 1,5 Stunden vor Beginn der Infusion (Tab. 23 und 24).

Im Vergleich zu den Ergebnissen der Kontrolluntersuchungen mit (Tab. 22) und ohne (Tab. 20) Aldosteroninfusion ließ sich der Eindruck gewinnen, daß die natriumretinierende Wirkung des Hormons durch 100 bzw. 400 mg Spironolacton dosisabhängig vermindert wurde. Aus dem unterschiedlichen Ergebnis bei den beiden mit der höheren Dosis behandelten Probanden wurde geschlossen, daß mit 400 mg Spironolacton noch kein maximaler aldosteronantagonistischer Effekt unter den gewählten Bedingungen erzielt werden kann.

Als Schlußfolgerung aus diesen Resultaten wurden für die Hauptstudie 3 Dosierungen festgelegt, deren höchste und niedrigste die in der Vorstudie verwendeten Dosen jeweils noch um den Faktor 2 über- bzw. unterschritten: 50 - 200 und 800 mg Spironolacton/Proband (p.o.).

.2.1.4. Ermittlung einer geeigneten Kaliumcanrenoatdosierung

In Analogie zum anfänglichen Dosierungsschema von Aldosteron wurde Kaliumcanrenoat zunächst kombiniert in Form einer initialen i.v. Injektion und anschließender dreistündiger i.v. Dauerinfusion verabfolgt.

Als Gesamtdosis waren für diese Untersuchung, die an zwei Probanden durchgeführt wurde, 1400 mg Kaliumcanrenoat vorgesehen (Tab. 25).

Die langsame initiale i.v.-Injektion (200 mg der Substanz) erfolgte unmittelbar vor Infusionsbeginn zusammen mit 0,5 mg Aldosteron. Mit der sich daran anschließenden i.v.-Dauerinfusion [- die Lösung enthielt 0,5 mg Aldosteron + 400 mg Kaliumcanrenoat/250 ml -] sollten innerhalb von 3 Std weitere 1200 mg zugeführt werden. Für die 4. - 6. Std war dann lediglich die Infusion von Aldosteron (0,5 mg/Std) vorgesehen. Bei beiden Probanden ließ sich dieses Behandlungsschema jedoch nicht durchführen. Lediglich mit einem gewissen zeitlichen Unterschied traten in beiden Fällen nach kurzer Zeit (in der 3. bzw. 4. Std.) starke Übelkeit und heftiges Erbrechen auf, so daß die (weitere) Zufuhr von Aldosteron bzw. Aldosteron + Kaliumcanrenoat abgebrochen werden mußte. Bei beiden Probanden konnten die aufgetretenen Nebenwirkungen durch schnelle Infusion von je 1000 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung innerhalb kurzer Zeit und anhaltend behoben werden. Bei einer der beiden Versuchspersonen (G.S.), die die gesamte vorgesehene Kaliumcanrenoatdosis erhalten hatte, deutete sich anhand des Na^+/K^+-Quotienten eine schwache aldosteronantagonistische Wirkung an (s. Tab. 25). Die bei dem anderen Probanden gemessenen Daten waren nicht auswertbar.

Auch in späteren Untersuchungen bestätigte sich die Unverträglichkeit hoher Kaliumcanrenoatdosen. Es konnte als Schwellenwert eine tolerierbare Maximaldosierung von ungefähr 2,6 mg/kg/Std. (i.v.) festgestellt werden. Bei den folgenden zwei Probanden wurde einerseits die Gesamtdosis auf 300 mg Kaliumcanrenoat reduziert und andererseits entsprechend dem in der Zwischenzeit

auch umgestellten Behandlungsschema für Aldosteron die Substanz ohne vorherige i.v. Injektion während der ersten 3 Std zusammen mit dem Mineralocorticoid intravenös infundiert (100 mg/Std). In der 4. - 6. Std erfolgte nur noch eine Zufuhr von Aldosteron (83,3 µg/Std) ohne weitere Gabe des Aldosteronantagonisten.

Aus den in Tabelle 26 dargestellten Ergebnissen läßt sich im Vergleich zu den an anderen Probanden durchgeführten Kontrolluntersuchungen mit und ohne Aldosteron (vgl. Tab. 22 und 20) eine geringe antimineralocorticoide Wirkung ableiten, die - besonders in der 6. - 8. Std - an der Höhe der Na^+-Konzentration und des Na^+/K^+-Quotienten erkennbar war.

Dieser nur andeutungsweise aufgetretene Effekt legte den Schluß nahe, daß für eine vollständige Aufhebung der Aldosteronwirkung auch bei Verwendung der niedrigen Dosis des Hormons auf jeden Fall erheblich höhere Kaliumcanrenoatdosen erforderlich sind. Da aber nach den vorangegangenen Erfahrungen mit Unverträglichkeitsreaktionen bei Gabe höherer Dosen gerechnet werden mußte, wurde das Behandlungsschema erneut geändert und die jeweils vorgesehene Dosis auf den gesamten Infusionszeitraum von 6 Std verteilt. Bei diesem Vorgehen konnte eine bessere Verträglichkeit erwartet werden. Zugleich entsprach es damit auch dem in den Tierexperimenten praktizierten Verfahren. Für die Hauptstudie wurden wie beim Spironolacton 3 Dosen vorgesehen: 300 - 600 - 1200 mg/Proband. Dies entsprach einer Zufuhrrate von 50 mg, 100 mg oder 200 mg/Proband/Std bzw. $\sim$0,65 mg, $\sim$1,3 mg oder 2,6 mg/kg/Std.

Unabhängig von den zunächst im Rahmen der Vorstudie primär interessierenden technischen Details ließen die dabei gewonnenen Ergebnisse bereits grundsätzlich erkennen, daß unter den gewählten

TABELLE 20: Einfluß einer i.v.-Dauerinfusion von 5,2 %iger Glucose bei zusätzlicher oraler Wasserbelastung auf die Harn-, Natrium- und Kaliumausscheidung gesunder Probanden.
[i.v. Infusion (250 ml/Std.) und orale Wasserbelastung (250 ml/30 min.) von der 1. bis 6. Std.]

Proband: D.H.; 28 J., männl.; 73 kg							Proband: U.L.; 19 J.; männl.; 72 kg					
Zeit	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$
Std	ml	mval/l	mval/l		mval	mval	ml	mval/l	mval/l		mval	mval
Vorw.	50	245	62,0	3,95	12,25	3,1	125	207	82,4	2,5	25,8	10,3
1.	85	154	32,6	4,72	13,09	2,77	390	90	21,8	4,13	35,1	8,5
2.	340	25	6,5	3,85	8,5	2,21	720	42	11,1	3,8	30,2	7,9
3.	450	29	10,0	2,9	13,05	4,5	770	33	9,0	3,6	25,4	6,9
4.	460	16	4,8	3,33	7,36	2,21	280	56	13,5	4,15	15,7	3,7
5.	540	40	11,3	3,54	21,6	6,1	650	27	5,6	4,85	17,5	3,6
6.	430	30	6,4	4,69	12,6	2,75	965	25	3,9	6,41	24,1	3,7
7.	440	53	10,4	5,1	23,32	4,58	520	45	6,6	6,82	23,4	3,4
8.	80	146	26,0	5,62	11,68	2,08	110	121	17,2	7,03	13,3	1,8

TABELLE 21: Einfluß von 3,5 mg Aldosteron (hohe Dosierung) auf die Harn-, Natrium- und Kaliumausscheidung gesunder Probanden.
[i.v. Infusion (250 ml/Std) und orale Wasserbelastung (250 ml/30 min) von der 1. bis 6. Std ; Dosierung von Aldosteron: 0,5 mg i.v. vor Infusionsbeginn, 0,5 mg/Std mit der Infusion von der 1. bis 6. Std]

Proband: G.P.; 26 J.; weibl.; 49 kg							Proband: G.N.; 27 J.; männl.; 83 kg					
Zeit	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times$ Vol	$K^+ \times$ Vol	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times$ Vol	$K^+ \times$ Vol
Std	ml	mval/l	mval/l		mval	mval	ml	mval/l	mval/l		mval	mval
Vorw.	-	-	-	-	-	-	115	179	74,2	2,4	20,6	8,5
1.	490	68	30,4	2,24	33,3	14,8	130	182	80,2	2,3	23,6	10,4
2.	220	4	13,9	0,29	0,88	3,0	455	23	26,4	0,87	10,4	12,0
3.	540	3	14,3	0,21	1,62	7,7	550	8	16,0	0,5	4,4	9,0
4.	440	3	12,8	0,23	1,32	5,6	540	10	15,6	0,64	5,4	8,4
5.	460	1	8,7	0,11	0,46	4,0	370	6	7,5	0,8	2,2	2,7
6.	530	7	10,5	0,67	3,7	5,5	1000	7	9,7	0,72	7,0	9,7
7.	370	1	10,4	0,1	0,37	3,8	270	13	12,8	1,02	3,5	3,4
8.	220	2	14,8	0,14	0,44	3,2	-	-	-	-	-	-

TABELLE 22: Einfluß von 0,5 mg Aldosteron (niedrige Dosierung) auf die Harn-, Natrium- und Kaliumausscheidung gesunder Probanden.
[i.v. Infusion mit Aldosteron: 83,3 µg/250 ml/Std von der 1. bis 6. Std ;
orale Wasserbelastung: Prob. G.P.: 250 ml/30 min von der 1. bis 6. Std ;
Prob. E.P.: 250 ml/30 min in der 1. und 2. Std ,
250 ml/Std von der 3. bis 6. Std]

Proband: G.P.; 26 J.; weibl.; 49 kg							Proband: E.P.; 24 J.; weibl.; 55 kg					
Zeit	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$
Std	ml	mval/l	mval/l		mval	mval	ml	mval/l	mval/l		mval	mval
Vorw.	30	131	41	3,2	3,93	1,23	560	91	14	6,5	50,96	7,84
1.	65	143	50,9	2,8	9,29	3,3	315	80	21	3,81	25,2	6,62
2.	330	22	14,5	1,5	7,26	4,78	695	14	9,6	1,46	9,73	6,67
3.	500	9	9,3	0,97	4,5	4,65	830	8	14,3	0,56	6,64	11,87
4.	520	5	13,2	0,38	2,6	6,86	310	14	24,7	0,57	4,34	7,66
5.	590	3	12,6	0,24	1,77	7,43	395	8	16,7	0,48	3,16	6,6
6.	545	3	11,0	0,27	1,63	5,99	545	11	23,5	0,47	6,0	12,81
7.	480	2	11,1	0,18	0,96	5,32	255	9	19,9	0,45	2,3	5,07
8.	420	3	8,6	0,35	1,28	3,6	100	57	74,7	0,76	5,7	7,47

TABELLE 23: Einfluß von 100 mg Spironolacton (p.o.) auf die Harn-, Natrium- und Kaliumausscheidung gesunder Probanden während einer intravenösen Aldosteroninfusion.
[i.v. Infusion mit Aldosteron: 83,3 µg/250 ml/Std von der 1. bis 6. Std ; orale Wasserbelastung: 250 ml/30 min in der 1. und 2. Std , 250 ml/Std von der 3. bis 6. Std]

Proband: J.E.; 31 J.; männl.; 82 kg							Proband: D.B.; 21 J.; männl.; 85 kg					
Zeit	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$
Std	ml	mval/l	mval/l		mval	mval	ml	mval/l	mval/l		mval	mval
Vorw.	205	191	80	2,39	39,16	16,4	480	265	63	4,21	127,2	30,24
1.	95	141	62	2,27	13,4	5,89	305	87	24	3,63	26,54	7,32
2.	330	31	14,2	2,18	10,23	4,69	720	16	7,9	2,03	11,52	5,69
3.	560	26	14,3	1,82	14,56	8,01	470	17	10,3	1,65	7,99	4,84
4.	500	38	21,5	1,77	19,0	10,75	460	18	10,5	1,71	8,28	4,83
5.	380	35	20,0	1,75	13,3	7,6	255	29	12,7	2,28	7,4	3,24
6.	600	8	6,8	1,18	4,8	4,08	530	8	5,4	1,48	4,24	2,86
7.	245	22	17,3	1,27	5,39	4,24	180	43	23,6	1,82	7,74	4,25
8.	70	92	61	1,51	6,44	4,27	5	153	48,9	3,13	0,77	0,24

TABELLE 24: Einfluß von 400 mg Spironolacton (p.o.) auf die Harn-, Natrium- und Kaliumausscheidung gesunder Probanden während einer intravenösen Aldosteroninfusion.
[i.v. Infusion mit Aldosteron: 83,3 µg/250 ml/Std von der 1. bis 6. Std ; orale Wasserbelastung: 250 ml/30 min in der 1. und 2. Std , 250 ml/Std von der 3. bis 6. Std]

Proband: G.N.; 27 J.; männl.; 83 kg							Proband: U.L.; 19 J.; männl.; 72 kg					
Zeit	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$
Std	ml	mval/l	mval/l		mval	mval	ml	mval/l	mval/l		mval	mval
Vorw.	420	230	39,4	5,84	96,6	16,55	225	251	52,4	4,79	56,48	11,79
1.	350	79	20,4	3,87	27,65	7,14	290	105	16,2	6,48	30,45	4,7
2.	545	30	9,0	3,33	16,35	4,91	420	48	7,7	6,23	20,16	3,23
3.	550	32	10,5	3,05	17,6	5,78	550	40	6,8	5,88	22,0	3,74
4.	575	33	10,8	3,06	18,98	6,21	610	44	6,7	6,57	26,84	4,09
5.	460	42	15,6	2,69	19,32	7,18	400	57	8,5	6,71	22,8	3,4
6.	770	22	10,1	2,18	16,94	7,78	800	37	5,8	6,38	29,6	4,64
7.	50	104	38,4	2,71	5,2	1,92	105	116	17,8	6,52	12,18	1,87
8.	70	97	47,6	2,04	6,79	3,33	190	107	17,7	6,05	20,33	3,36

Harn-, Natrium- und Kaliumausscheidung gesunder Probanden während einer intravenösen Aldosteroninfusion.
[vorgesehene Infusionszeit und -menge: 250 ml/Std von der 1. bis 6. Stunde; vorgesehene orale Wasserbelastung: 250 ml/30 min von der 1. bis 6. Std ; Aldosterondosierung: 0,5 mg vor Infusionsbeginn i.v., 0,5 mg/Std mit der i.v. Infusion; Dosierung von Kaliumcanrenoat: 200 mg als i.v. Injektion vor Infusionsbeginn, 400 mg/Std mit der i.v.-Infusion von der 1. bis 3. Std]

Proband: G.S ; 31 J.; männl.; 77 kg

Bemerkung:
Nach der 3. Std mußten die i.v. Infusion und die Wasserbelastung wegen Erbrechen abgebrochen werden. Der Proband erhielt die vorgesehene Gesamtdosis von 1400 mg Kaliumcanrenoat.

Zeit	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$
Std	ml	mval/l	mval/l		mval	mval
Vorw.	21	127	112	1,13	2,67	2,35
1.	360	72	49	1,47	25,92	17,64
2.	860	10	13,1	0,76	8,6	11,27
3.	835	16	15,2	1,05	13,36	12,69
4.	150	45	45,9	0,98	6,75	6,89
5.	70	115	43,8	2,63	8,05	3,07
6.	-	-	-	-	-	-
7.	-	-	-	-	-	-
8.	40	149	46	3,24	5,96	1,84

Proband: D.H.; 28 J.; männl.; 73 kg

Bemerkung:
Nach der 2. Std mußte die i.v. Infusion und die orale Wasserbelastung wegen Erbrechen abgebrochen werden. Daher erhielt der Proband nur 1000 mg statt der vorgesehenen 1400 mg Kaliumcanrenoat.

Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$
ml	mval/l	mval/l		mval	mval
98	158	122	1,3	15,48	11,96
510	74	45	1,6	3,77	2,3
930	16	15,4	1,04	14,88	14,32
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
270	109	88,7	1,23	29,43	23,95
-	-	-	-	-	-
200	121	104,4	1,16	24,2	20,88

TABELLE 26: Einfluß einer Gesamtdosis von 300 mg Kaliumcanrenoat (i.v.) auf die Harn-, Natrium- und Kaliumausscheidung gesunder Probanden während einer intravenösen Aldosteroninfusion.
[i.v. Infusion mit Aldosteron: 83,3 µg/250 ml/Std von der 1. bis 6. Std ;
orale Wasserbelastung: 250 ml/30 min in der 1. und 2. Std , 250 ml/Std von der 3. - 6. Std ;
Dosierung von Kaliumcanrenoat: 100 mg/Std mit der i.v. Infusion von der 1. bis 3. Std]

Proband: G.P.; 26 J.; weibl.; 49 kg							Proband: G.H.; 31 J.; männl.; 60 kg					
Zeit	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$	Volumen	$[Na^+]$	$[K^+]$	$\frac{Na^+}{K^+}$	$Na^+ \times Vol$	$K^+ \times Vol$
Std	ml	mval/l	mval/l		mval	mval	ml	mval/l	mval/l		mval	mval
Vorw.	210	158	96,9	1,63	33,18	20,35	210	134	66,0	2,03	28,14	13,86
1.	175	29	15,3	1,9	5,08	2,68	180	29	22,0	1,32	5,22	3,96
2.	670	8	9,3	0,86	5,36	6,23	450	10	11,0	0,91	4,5	4,95
3.	510	5	15,6	0,32	2,55	7,96	570	8	12,7	0,63	4,56	7,24
4.	510	8	17,2	0,47	4,08	8,77	360	11	17,9	0,61	3,96	6,44
5.	470	11	19,5	0,56	5,17	9,17	600	8	9,1	0,88	4,8	5,46
6.	500	9	14,6	0,62	4,5	7,3	590	13	8,7	1,49	7,67	5,13
7.	60	25	40,5	0,62	1,5	2,43	260	28	19,5	1,44	7,28	5,07
8.	70	34	36,7	0,93	2,38	2,57	240	37	30,0	1,23	8,88	7,2

Bedingungen sowohl ein mineralocorticoider Effekt von exogenem Aldosteron als auch dessen Aufhebung durch Antialdosterone am gesunden Menschen nachweisbar ist.

.2.2. Hauptstudie: Aldosteronantagonistische Wirkung von Spironolacton, Kaliumcanrenoat und ZK 62 355 bei gesunden Probanden

Bei dieser Studie interessierte nicht nur die Frage, ob der aldosteronantagonistische Effekt von Spironolacton und Kaliumcanrenoat, der in den Voruntersuchungen beobachtet worden war, auf eine dosisabhängige und deshalb für einen quantitativen Vergleich geeignete Aufhebung der mineralocorticoiden Wirkung des exogen zugeführten Aldosterons zurückzuführen ist, sondern ob zusätzlich mit den gewählten Antialdosterondosierungen auch die Aktivität des endogenen Aldosterons beeinflußt wird. Zur Beantwortung dieser Frage wurden daher mit Spironolacton und Kaliumcanrenoat Untersuchungen an gesunden Probanden sowohl mit als auch ohne Infusion von exogenem Aldosteron durchgeführt. Das Spironolactonderivat ZK 62 355, bei dem in erster Linie die Wirksamkeitsrelation zum Spironolacton interessierte, wurde nur bei gleichzeitiger Infusion von Aldosteron untersucht.

Die Beurteilung der Wirksamkeit von Spironolacton, Kaliumcanrenoat und ZK 62 355 erfolgte anhand ihrer Beeinflussung der Na^+- und K^+-Ausscheidung im Urin. Da sich herausstellte, daß die verschiedenen Behandlungen in allen drei Teilstudien bzw. Teilauswertungen keinen signifikanten Einfluß auf die Harnflußrate ausübten, wurde darauf verzichtet, neben den Elektrolytkonzentrationen pro Urinfraktion auch die jeweils darin enthaltenen Gesamtmengen an Natrium und Kalium statistisch auszuwerten. Die Elektrolytgesamtausscheidung wurde stattdessen in Form kumulativer Darstellungen dokumentiert. Die mittleren Harnflußraten mit ihren Standardabweichungen sind als gemeinsame Tabelle für die gesamte Hauptstudie dem Ergebnisteil als Anhang beigefügt (Tabelle 48).

.2.2.1. Untersuchungen mit Spironolacton

Sechs Probanden wurden in randomisierter Reihenfolge mit oder ohne Zufuhr von Aldosteron jeweils mit 50 mg, 200 mg oder 800 mg

Spironolacton behandelt. Kontrolluntersuchungen erfolgten unter den gleichen Bedingungen nur ohne Gabe von Spironolacton. Zwischen zwei Prüfungen wurde jeweils ein Abstand von mindestens einer Woche eingehalten. Die Applikation der Substanz erfolgte 1,5 Std vor Beginn der i.v. Dauerinfusion von isotonischer Glucose-/KCl-Lösung (5,2 % Glucose, 13,4 mval K^+/l) ohne oder mit Aldosteron (83,3 µg/250 ml). Entsprechend dem in der Vorstudie erprobten Verfahren wurden die Probanden zusätzlich oral mit Mineralwasser belastet. In der 1. und 2. Stunde nach Infusionsbeginn erhielten sie 250 ml/30 min , in der 3.-6. Std 250 ml/60 min. Die Urinfraktionierung erfolgte stündlich bis zur 8. Std nach Infusionsbeginn, d.h. zwei Std über das Ende der Dauerinfusion hinaus. Weitere Einzelheiten gehen aus der Methodenbeschreibung hervor. In den Tabellen 27-29 sind die arithmetischen Mittelwerte der für die statistische Auswertung (Varianzanalyse, Tukey-Test) verwendeten Variablen [- Na^+- und K^+-Konzentration im Urin sowie der daraus gebildete Na^+/K^+-Quotient -] aufgeführt. Außerdem wurden bei logarithmischer Transformation der Spironolactondosen für die bei der Aldosteroninfusion ermittelten Daten Regressionsberechnungen mit dem Ziel durchgeführt, die Dosiswirkungsbeziehungen zu charakterisieren. Die dabei erhaltenen Ergebnisse gehen aus der Tabelle 30 hervor.

Aldosteron erniedrigte in der gewählten Dosierung (6 x 83,3 µg/Std) im Vergleich zur Kontrolluntersuchung von der 3. Std an die Na^+-Konzentration und damit auch die Na^+/K^+-Quotienten bis zum Ende der Beobachtungsperiode (Tab. 27 und 28). Ein kaliumeliminierender Effekt deutete sich zwar ab der 4. Std an, war aber nicht mit einem Irrtumsrisiko ≤ 5 % statistisch zu sichern (Tab. 29). Spironolacton hob in den gewählten Dosierungen (50 mg, 100 mg oder 800 mg/Proband) den durch Aldosteron bewirkten natriumretinierenden Effekt dosisabhängig auf. Eine lineare Dosisabhängigkeit konnte sowohl für die Veränderungen der Na^+-Konzentration als auch der Na^+/K^+-Quotienten von der 4.-7. bzw. 4.-8. Std festgestellt werden (s. Tab. 30).

Der natriumretinierende Effekt des exogen verabreichten Aldosterons und seine Aufhebung durch verschiedene Sprironolactondosen

war auch an der Na^+-Gesamtausscheidung (Na^+xVol) deutlich erkennbar (Abb. 11.1.). Mit steigender Spironolactondosis nahm die durch Aldosteron stark eingeschränkte Na^+-Ausscheidung (Dosis 0) soweit zu, daß unter dem Einfluß der höchsten Dosis das Kontrollniveau sogar überschritten wurde.

Die Veränderungen der Kaliumgesamtausscheidung waren weniger deutlich ausgeprägt. Der kaliumeliminierende Effekt des Aldosterons war vergleichsweise gering, aber durchaus erkennbar. Mit steigender Spironolactondosis (200 und 800 mg) näherten sich die Kurven dem Kontrollniveau an (Abb. 11.2.).

Da keine Unterschiede in der Höhe der Wasserausscheidung zwischen den verschiedenen Behandlungen zu erkennen waren, wurde hier auf die Darstellung der Harnflußrate verzichtet (s. Tab.48, Anhang). In den auf den Abbildungen 11.1. und 11.2. dargestellten Na^+- und K^+-Gesamtausscheidungen sind die entsprechenden Größen außerdem enthalten.

Die Verabreichung von Spironolacton ohne gleichzeitige Aldosteronzufuhr hatte keine signifikanten Veränderungen der Na^+- und K^+-Konzentration im Urin sowie des Na^+/K^+-Quotienten zur Folge (Tab. 27 - 29). Numerisch war allerdings nach Gabe der höchsten Dosis (800 mg) eine Zunahme des Na^+-Gehalts im Urin angedeutet. Dieses Verhalten stimmt mit den Befunden überein, die mit der gleichen Dosis bei Infusion von Aldosteron erhoben wurden (s. Abb. 11.2.: Erhöhung der Na^+-Ausscheidung über die Kontrollwerte hinaus) und deutet auf einen beginnenden Antagonismus gegenüber dem endogenen Aldosteron hin.

.2. Stoffwechselprodukte von Spironolacton im Blutplasma und Urin

Es wurde bereits erwähnt, daß Canrenon, ein in Position 7

TABELLE 27: Einfluß von Aldosteron und/oder Spironolacton auf die Natriumkonzentration im Urin (mval/l) bei sechs gesunden Probanden während einer kontinuierlichen i.v. und oralen Flüssigkeitsbelastung.
[$\bar{x}$, Statistik: Varianzanalyse und Tukey-Test; i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. bis 6. Std]

Behandlungen	Spironolactondosis (mg/Proband, p.o.)	Fraktionen (Std)								
		Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	166,0	93,8	25,0	22,3	31,3	26,1	38,6	66,0	94,8
Aldosteron (83,3 µg/Std, i.v., 1. - 6. Std)	0	166,2	125,0	26,3	9,5	7,8	7,5	8,8	11,5	20,2
Aldosteron + Spironolacton	50	149,5	100,3	36,3	26,8	21,0	17,5	14,2	18,5	74,2
	200	193,0	145,5	36,5	30,2	34,3	29,2	21,3	69,5	110,6
	800	157,3	105,2	39,3	37,3	45,3	37,2	36,3	67,3	93,2
Spironolacton	50	144,6	118,2	49,5	32,3	44,5	43,6	35,5	53,8	125,6
	200	137,5	102,2	53,3	34,6	37,8	41,2	43,8	97,5	100,6
	800	190,1	125,6	38,2	36,6	46,6	41,3	41,0	83,6	165,5
Varianzanalyse: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen		-	-	-	++	++	++	++	++	++
Tukey-Test: Grenzdifferenz zwischen zwei Gruppen für $p \leq 0,05$					20,6	22,6	22,4	23,7	58,3	72,3
für $p \leq 0,01$					24,5	27,9	26,7	28,3	69,5	86,3
Gemeinsame Standardabweichung (s)		48,8	75,0	33,5	11,1	12,2	12,1	12,8	31,6	39,2

(n=8,2) bei sechs gesunden Probanden während einer kontinuierlichen i.v. und oralen Flüssigkeitsbelastung.
[$\bar{x}$, Statistik: Varianzanalyse und Tukey-Test; i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. bis 6. Std]

Behandlungen	Spironolactondosis (mg/Proband,p.o.)	Fraktionen (Std)								
		Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	62,2	37,3	9,1	12,2	10,2	7,5	7,9	14,9	19,3
Aldosteron (83,3 µg/Std , i.v., 1. - 6. Std)	0	46,1	30,0	15,7	11,9	12,2	10,6	14,1	17,5	38,5
Aldosteron + Spironolacton	50	57,1	32,4	13,3	16,5	14,8	14,5	14,3	25,1	72,7
	200	52,4	34,6	9,3	8,7	10,7	9,7	8,5	24,8	39,2
	800	58,0	36,6	12,6	10,8	13,0	9,8	8,2	17,4	20,9
Spironolacton	50	63,3	30,6	11,9	8,2	9,7	8,3	6,0	8,1	21,4
	200	48,2	20,6	11,6	8,5	7,8	6,9	7,2	16,6	16,6
	800	57,6	25,8	9,2	8,7	9,9	7,7	7,0	12,4	25,5
Varianzanalyse: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen		-	-	-	-	-	+	++	-	++
Tukey-Test: Grenzdifferenz zwischen zwei Gruppen für $p \leq 0,05$							6,6	7,2		33,2
für $p \leq 0,01$								8,6		39,5
Gemeinsame Standardabweichung (s)		22,6	22,1	8,4	6,4	5,0	3,6	3,9	9,4	17,9

TABELLE 29 : Einfluß von Aldosteron und/oder Spironolacton auf die Na^+/K^+-Quotienten im Urin bei sechs gesunden Probanden während einer kontinuierlichen i.v. und oralen Flüssigkeitsbelastung.
[$\bar{x}$, Statistik: Varianzanalyse und Tukey-Test; i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. bis 6. Std]

Behandlungen	Spironolacton-dosis (mg/ Proband, p.o.)	Fraktionen (Std)								
		Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	2,93	2,28	3,49	2,87	3,52	4,12	5,27	5,54	5,32
Aldosteron (83,3 µg/Std, i.v., 1. - 6. Std)	0	4,47	4,53	2,01	0,92	0,73	0,72	0,68	0,67	0,53
Aldosteron + Spironolacton	50	3,10	3,84	3,20	1,97	1,70	1,23	1,00	0,67	1,06
	200	4,22	4,45	3,92	3,51	3,23	2,84	2,68	2,75	2,24
	800	3,06	3,55	3,51	3,72	3,82	4,08	4,42	4,20	4,79
Spironolacton	50	2,47	4,19	3,91	3,87	4,91	5,49	6,31	6,66	5,60
	200	2,92	5,31	4,22	4,19	5,26	6,12	6,31	6,26	6,20
	800	3,63	4,62	4,35	4,50	5,24	6,04	6,91	7,64	7,23
Varianzanalyse: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen		-	-	-	++	++	++	++	++	++
Tukey-Test: Grenzdifferenz zwischen zwei Gruppen für $p \leq 0,05$					2,40	2,47	2,79	3,05	3,21	4,13
für $p \leq 0,01$					2,86	2,95	3,33	3,64	3,83	4,93
Gemeinsame Standardabweichung (s)		1,42	1,73	1,73	1,30	1,34	1,51	1,65	1,74	2,24

Abbildung 11.1.

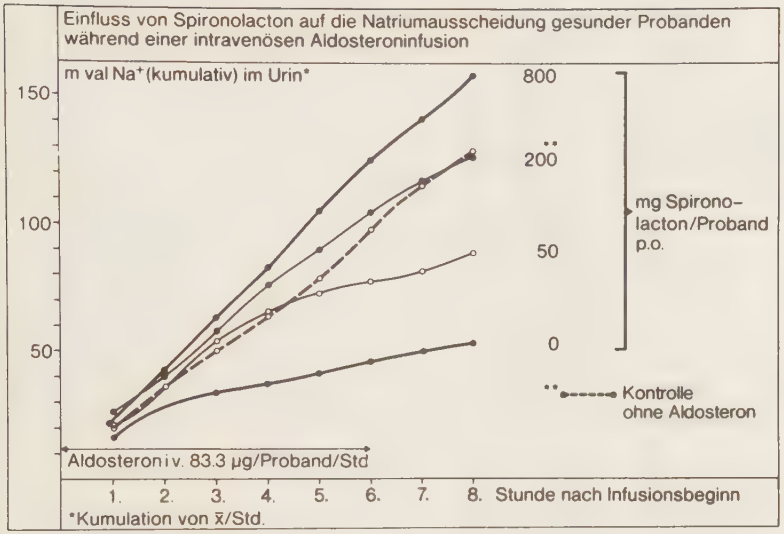


Abbildung 11.2.

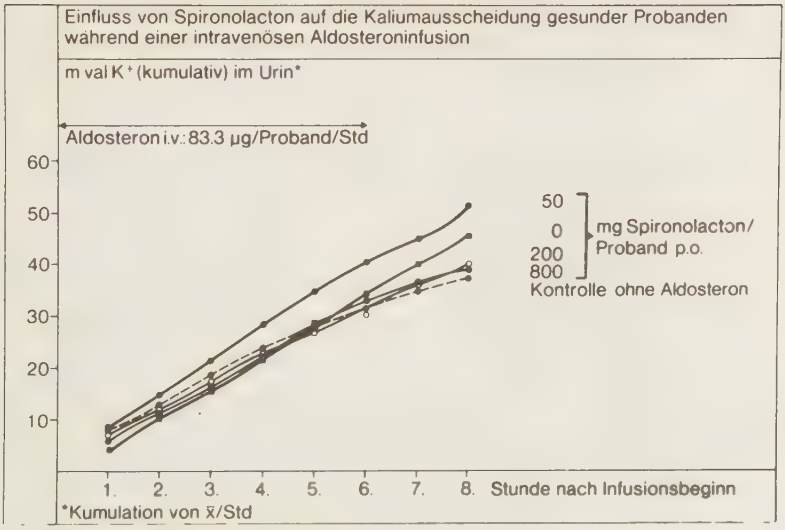


TABELLE 30: Ergebnisse der Regressionsanalyse zur Charakterisierung der Dosiswirkungsbeziehungen für Spironolacton bei gesunden Probanden.
Berechnungsgrundlage:
Na^+- bzw. K^+-Konzentration im Urin und daraus ermittelter Na^+/K^+-Quotient nach Vorbehandlung mit 50, 200 oder 800 mg Spironolacton bei Infusion von Aldosteron (83,3 µg/Std) für 6 Std ; Bedeutung der Symbole: + = signifikante und lineare Dosiswirkungsbeziehung bei logarithmischer Transformation der Dosis, - = keine signifikante und/oder keine lineare Dosiswirkungsbeziehung unter diesen Bedingungen.

Variable	Fraktion (Std)								
	V.W.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
$[Na^+]$ µval/ml	-	-	-	-	+	+	+	+	-
$[K^+]$ µval/ml	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Na^+/K^+	-	-	-	-	+	+	+	+	+

dethioacetyliertes Derivat von Spironolacton, als aktiver Hauptmetabolit dieses Aldosteronantagonisten angesehen wird (Literaturangaben: s. Einleitung). Da sich außerdem zwischen Canrenon und Canrenoat, bei dem im Gegensatz zum Conrenon keine innere Esterbindung vorliegt, ein Gleichgewicht im Organismus einstellt, wurden Canrenon und Canrenoat in der vorliegenden Studie als Maß für den Wirkstoffgehalt im Blut und für die Wirkstoffelimination im Urin bei Behandlung mit Spironolacton und Kaliumcanrenoat verwendet. Bei der Metabolitausscheidung im Urin wurde außerdem noch das aus dem Canrenoat entstehende Glucuronid mitberücksichtigt. In den Tabellen 31-34 sowie den Abbildungen 12 und 13 sind die Metabolitkonzentrationen im Plasma und die stündlich mit dem Urin ausgeschiedenen Metabolitmengen angegeben.

Unabhängig davon, ob die Probanden zugleich Aldosteron erhielten oder nicht, stieg im Plasma die Canrenonkonzentration dosisabhängig 4,5 Std nach der Einnahme von Spironolacton an. Danach nahm sie langsam wieder ab, wobei die nach Gabe der höheren Dosen erzielten Plasmakonzentrationen prozentual langsamer abfielen als die Canrenonkonzentration bei den mit 50 mg behandelten Probanden (Tab. 31 und 32, Abb. 12)*. Prinzipiell gleiche Veränderungen ergaben sich für den Canrenoatgehalt im Plasma, das Niveau lag nur insgesamt niedriger (Tab. 31 und 32).

Die Ausscheidungsrate der drei gemessenen Stoffwechselprodukte (Canrenon, Canrenoat und Canrenoatglucuronid) erreichte bereits in der ersten Stunde der Dauerinfusion, d.h. zwischen 1,5 und 2,5 Std nach Einnahme von Spironolacton, einen maximalen Wert, der sich in den folgenden Stunden nur wenig änderte. Erst in den letzten beiden Fraktionen (zwischen 7,5 und 9,5 Std nach der Behandlung) nahm die Ausscheidungsrate allmählich wieder ab. Wie bei den Canrenon-/Canrenoatkonzentrationen im Plasma zeigte sich auch bei der renalen Elimination eine eindeutige Abhängigkeit von der eingenommenen Dosis, während es keine Rolle spielte,

---

*Werte aus Untersuchung mit Aldosteroninfusion

ob zugleich Aldosteron zugeführt wurde oder nicht (Tab. 33 und 34). Besonders deutlich waren die Dosisabhängigkeit und die relativ konstante Ausscheidungsrate bei kumulativer Darstellung der ausgeschiedenen Gesamtmengen erkennbar (Abb. 13*).

Es sei an dieser Stelle im übrigen darauf hingewiesen, daß unabhängig von der Höhe der Dosierung die bis zum Ende der Untersuchung, d.h. innerhalb von 9,5 Std nach Einnahme des Aldosteronantagonisten, im Urin ausgeschiedene Menge der drei Stoffwechselprodukte insgesamt nur 5 - 6 (Gew.) % der eingenommenen Spironolactondosis betrug. Diese Tatsache ist auch aus anderen Untersuchungen bekannt (HOLLMANN, SENFT und WERNER, 1964).

3.2.2.3. Untersuchungen mit Kaliumcanrenoat

Fünf Probanden erhielten in randomisierter Reihenfolge im Abstand von mindestens einer Woche drei verschiedene Dosen von Kaliumcanrenoat (300, 600 oder 1000/1200 mg entsprechend ≈0,65 mg, ≈1,3 mg oder 2,6 mg/kg/Std) sowohl ohne als auch zusammen mit Aldosteron (83,3 µg/Std) intravenös infundiert. Neben diesen sechs Untersuchungen erfolgten außerdem eine Kontrollinfusion und eine Infusion mit Aldosteron allein. Die orale Wasserbelastung und die Urinfraktionierung wurde wie in der Untersuchung mit Spironolacton vorgenommen.

Drei Probanden mit einem vergleichsweise geringen Körpergewicht vertrugen die vorgesehene Gesamtdosis von 1200 mg Kaliumcanrenoat nicht. Bei ihnen mußte die jeweilige Untersuchung mit einer etwas geringeren Absolutdosis wiederholt werden. Sie wurde so gewählt, daß in bezug auf das Körpergewicht in allen Fällen die gleiche Menge, d.h. 2,6 mg/kg/Std (≈ 15,5 mg/kg und

---

*s. Fußnote auf Seite 99

TABELLE 31: Canrenon- und Canrenoatkonzentration (ng/ml) im Blutplasma gesunder Probanden nach oraler Verabreichung von Spironolacton während einer intravenösen Aldosteroninfusion

Spironolactondosis (mg/Prob., p.o.; 1,5 Std vor Infusionsbeginn)	Statistische Kenngrößen	Vorwert		4,5 Std		7,5 Std		9,5 Std	
				Zeit nach Einnahme von Spironolacton					
		Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat
50	$\bar{x}$	6,60	7,20	100,00	49,33	66,33	29,67	49,33	30,33
	s	8,35	10,26	28,40	15,90	23,33	8,45	19,84	25,81
	$s_{\bar{x}}$	3,74	4,59	11,60	6,49	9,52	3,45	8,10	10,54
	n	5		6		6		6	
200	$\bar{x}$	15,33	8,67	328,33	171,83	260,67	146,67	220,50	121,33
	s	31,43	10,73	108,94	62,11	47,44	92,29	59,10	88,26
	$s_{\bar{x}}$	12,83	4,38	44,48	25,36	19,37	37,68	24,13	36,03
	n	6		6		6		6	
800	$\bar{x}$	24,33	6,83	985,67	478,00	850,83	395,33	853,50	371,33
	s	25,47	15,32	472,18	200,88	372,21	156,76	586,37	189,24
	$s_{\bar{x}}$	10,40	6,25	192,77	82,01	151,95	64,00	239,38	77,26
	n	6		6		6		6	

TABELLE 32: Canrenon- und Canrenoatkonzentration (ng/ml) im Blutplasma gesunder Probanden nach oraler Verabreichung von Spironolacton während einer intravenösen Dauerinfusion (ohne Aldosteronzusatz)

Spironolactondosis (mg/Prob., p.o.; 1,5 Std vor Infusionsbeginn)	Statistische Kenngrößen	Vorwert		4,5 Std		7,5 Std		9,5 Std	
				Zeit nach Einnahme von Spironolacton					
		Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat
50	$\bar{x}$	45,20	34,20	135,00	84,67	85,67	60,50	84,50	69,83
	s	85,49	25,68	43,62	54,63	23,22	26,07	54,10	73,35
	$s_{\bar{x}}$	38,23	11,49	17,81	22,30	9,48	10,65	22,09	29,94
	n	5		6		6		6	
200	$\bar{x}$	3,17	7,67	297,83	140,83	224,80	119,80	166,40	93,00
	s	5,38	7,12	146,16	55,38	107,65	54,15	90,50	35,76
	$s_{\bar{x}}$	2,20	2,91	59,67	22,61	48,14	24,22	40,47	15,99
	n	6		6		5		5	
800	$\bar{x}$	37,00	21,40	916,67	403,67	852,50	399,33	684,83	334,50
	s	40,42	35,71	478,66	151,86	402,84	228,20	262,39	307,61
	$s_{\bar{x}}$	18,07	15,97	195,41	62,00	164,46	93,16	107,12	125,58
	n	5		6		6		6	

Canrenoat, Canrenoatglucuronid; µg/Std), im Urin gesunder Probander während einer intravenösen Aldosteroninfusion

Spironolactondosis (mg/Prob.; 1,5 Std vor Infusionsbeginn)	Statist. Kenngrößen (n = 6)	Vorwert	1,5 - 2,5	2,5 - 3,5	3,5 - 4,5	4,5 - 5,5	5,5 - 6,5	6,5 - 7,5	7,5 - 8,5	8,5 - 9,5
			Zeitabschnitte (Std) nach Einnahme von Spironolacton							
50	$\bar{x}$	81,3	638,7	475,8	370,6	414,0	303,8	274,8	196,6	272,1
	s	137,6	234,9	171,0	171,2	155,9	128,3	130,4	57,1	137,1
	$s_{\bar{x}}$	56,2	95,9	69,8	69,9	63,6	52,4	53,3	25,5	56,0
200	$\bar{x}$	92,8	1739,2	1316,9	1599,2	1471,0	1179,6	1294,1	859,4	873,5
	s	117,4	1090,5	988,9	919,8	592,0	490,2	520,6	381,0	380,2
	$s_{\bar{x}}$	47,9	445,2	403,7	375,5	241,7	200,1	212,5	155,5	155,2
800	$\bar{x}$	280,2	3391,8	3912,5	3617,3	3554,2	4104,5	3189,0	3070,5	3484,9
	s	328,8	2220,2	1441,7	1705,0	1734,9	2358,3	1180,2	1280,8	1144,9
	$s_{\bar{x}}$	134,2	906,4	588,6	696,1	708,3	962,8	481,8	522,9	467,4

TABELLE 34: Renale Ausscheidung von Stoffwechselprodukten des Spironolactons (Canrenon, Canrenoat, Canrenoatglucuronid; µg/Std) im Urin gesunder Probanden während einer intravenösen Dauerinfusion (ohne Aldosteronzusatz)

Spironolactondosis (mg/Prob., p.o.; 1,5 Std vor Infusionsbeginn)	Statist. Kenngrößen (n = 6)	Vorwert	1,5-2,5	2,5-3,5	3,5-4,5	4,5-5,5	5,5-6,5	6,5-7,5	7,5-8,5	8,5-9,5
			Zeitabschnitte (Std) nach Einnahme von Spironolacton							
50	$\bar{x}$	145,0	315,7	413,2	450,2	306,4	243,9	260,6	196,1	294,2
	s	208,6	123,1	131,4	182,8	137,3	125,7	110,5	50,1	101,9
	$s_{\bar{x}}$	85,2	50,3	58,8	74,6	56,1	51,3	45,1	20,4	41,6
200	$\bar{x}$	371,8	1842,9	1308,9	1134,1	1200,6	1124,2	965,3	854,4	775,0
	s	244,1	808,6	331,2	537,8	715,8	516,8	437,9	370,1	298,9
	$s_{\bar{x}}$	99,7	330,1	135,2	219,5	320,1	211,0	178,8	151,1	122,0
800	$\bar{x}$	532,4	2672,3	3072,8	2458,9	2775,4	2557,4	3034,7	2426,1	3477,1
	s	314,7	989,6	1286,9	1430,7	1265,9	1496,4	784,1	1450,5	1675,3
	$s_{\bar{x}}$	128,5	404,0	525,4	584,1	516,8	610,9	350,7	592,2	683,9

Abbildung 12

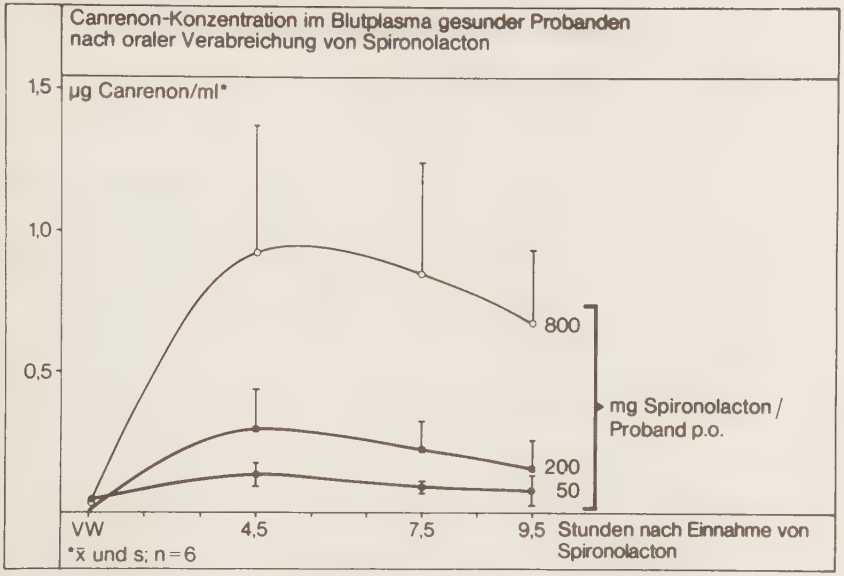
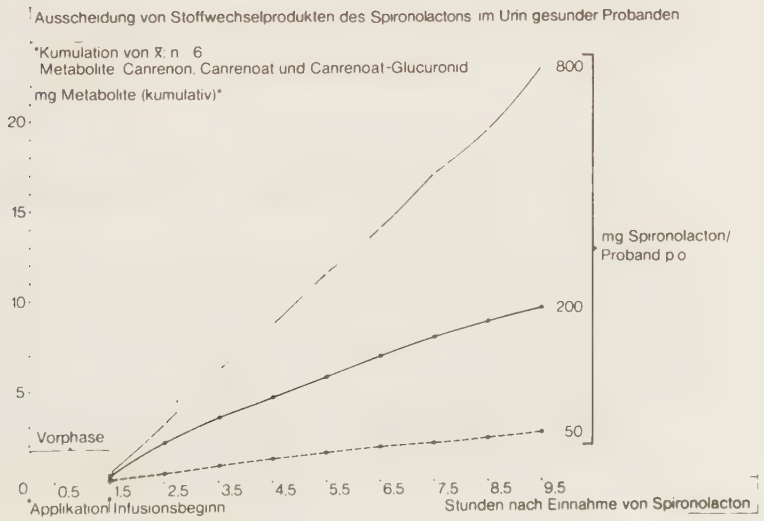


Abbildung 13



6 Std), infundiert wurde. Diese erneuten Unverträglichkeitsreaktionen waren zunächst nicht mehr erwartet worden, da gegenüber der Vorstudie sowohl die Dosis reduziert als auch der Infusionszeitraum verlängert worden war. Da sie nicht gleich beim ersten Probanden auftraten, hatte bis zu diesem Zeitpunkt entsprechend dem vorher festgelegten Randomisierungsschema bereits ein größerer Teil der übrigen Prüfungen (andere Dosierungen, Kontrollinfusionen mit und ohne Aldosteron) stattgefunden. Um nicht die gesamte Kaliumcanrenoat-Hauptstudie neu beginnen zu müssen, wurde daher darauf verzichtet, für die beiden unteren Dosierungen (50 oder 100 mg/Proband/Std) eine gleichartige Anpassung an das Körpergewicht durchzuführen. Dieser Unterschied im Bezugssystem bei den unteren Dosisgruppen (gleich Absolutdosen) und der obersten Dosisgruppe (variable Absolutdosis bei gleicher Dosierung/kg KG)wurde bewußt in Kauf genommen, da hierdurch höchstens im Detail,aber nicht im Prinzip ein Einfluß auf das Ergebnis zu erwarten war.

In den Tabellen 35 - 37 sind die arithmetischen Mittelwerte der für die verschiedenen Behandlungsgruppen gemessenen Na^+- und K^+-Konzentrationen im Urin und daraus berechneten Na^+/K^+-Quotienten aufgeführt. Sie wurden mit Hilfe der Varianzanalyse und einem nachgeschalteten paarweisen Vergleichstest (Tukey-Test) statistisch ausgewertet. Auf die Darstellung der ausgeschiedenen Harnvolumina wurde wie bei der Untersuchung mit Spironolacton hier verzichtet, da keine Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen bestanden (s. Tab. 48, Anhang).
Unabhängig davon wurde in einem zweiten Auswertungsverfahren anhand von Regressionsberechnungen geprüft, ob (bei linearer Auftragung der Wirkung und logarithmischer Transformation der Dosen) eine signifikante und lineare Dosiswirkungsbeziehung vorliegt (Tabelle 38). Da diese Berechnungen nicht gleiche Dosierungen für jeden Probanden voraussetzen, wurden hier einheitlich die

individuell verabreichten Dosen in der Dimension mg/kg eingesetzt und damit - zumindest für diese Auswertung - die erwähnten Unterschiede im Bezugssystem nachträglich ausgeglichen.

Auch bei dieser Studie verursachte das i.v. infundierte Aldosteron eine Natriumretention, die von der 5. bis zur 8. Stunde als signifikante Abnahme der Na^+-Konzentration im Urin nachweisbar war (Tabelle 35). Etwas deutlicher als bei der Studie mit Spironolacton war in diesem Fall auch der kaliumeliminierende Effekt von Aldosteron ausgeprägt. Trotz erheblicher Differenzen in den von der 3. bis zur 8. Std gemessenen mittleren Kaliumkonzentrationen im Urin (Tab. 36) ließ sich ein statistisch signifikanter Effekt gegenüber der Kontrolluntersuchung allerdings nur für einen Zeitpunkt sichern. Die Na^+/K^+-Quotienten wurden dagegen durchgehend von der 2. Std an bis zum Untersuchungsende nach 8 Stunden im Vergleich zur Kontrollinfusion ohne Aldosteron stark gesenkt (Tab. 37). Bei unverändertem Harnfluß kamen diese Wirkungen auch in reduzierten bzw. erhöhten Natrium- und Kaliumgesamtausscheidungen zum Ausdruck, wie sie auf den Abbildungen 14.1. und 14.2. in Form einer kumulativen Darstellung angegeben sind.

Kaliumcanrenoat hatte in den verwendeten Dosen eine dosisabhängige Abschwächung bzw. Aufhebung der natriumretinierenden Wirkung des exogen zugeführten Aldosterons zur Folge. Dies geht aus den Veränderungen der Na^+-Konzentration und der Na^+/K^+-Quotienten im Urin (s. Tab. 35 und 37), den dazu speziell durchgeführten Regressionsberechnungen (Tab. 38) und der unterschiedlichen Anstiegsgeschwindigkeit der Natriumgesamtausscheidung (Abb. 14.1.) hervor. Ein das Kontrollniveau übersteigender Effekt war hierbei nicht zu beobachten.

Bezüglich der Kaliumausscheidung war außer in der fünften Std keine statistisch signifikante Senkung der unter Aldosteroneinfluß gemessenen Kaliumkonzentration im Urin festzustellen (Tab. 36). Auf der Grundlage dieses Parameters war auch keine Dosisabhängigkeit des kaliumretinierenden Effekts von Kaliumcanrenoat erkennbar (Tab. 38). Bei kumulativer Darstellung der Gesamtkaliumausscheidung, in die außer dem Elektrolytgehalt auch der bei isolierter Betrachtung nicht signifikant unterschiedliche Harnfluß eingeht, ergaben sich allerdings durchaus Hinweise auf eine Abhängigkeit zu Dosis und Wirkung (Abb. 14.2.). Während die Kurven, die bei Infusion der beiden unteren Dosen ermittelt wurden, sich nicht wie der bei alleiniger Aldosteroninfusion erhaltenen Kurve abhoben, hatte die oberste Dosis einen erheblich schwächeren Anstieg der Kaliumausscheidung zur Folge und lag damit zwischen dem für die Kontrollinfusion und die Aldosteronzufuhr ermittelten Niveau. Bemerkenswert erscheint in diesem Zusammenhang die Beobachtung, daß die durch Aldosteron bewirkte Natriumretention bereits unter dem Einfluß der mittleren Canrenoatdosis (200 mg/Std entsprechend 1,3 mg/kg/Std) vollständig aufgehoben wurde.

Im Gegensatz zu Spironolacton hatte Kaliumcanrenoat in der gewählten Dosierung bei alleiniger Verabreichung, d.h. ohne gleichzeitige Aldosteroninfusion, weder einen signifikanten noch einen angedeuteten Einfluß auf die Na^+- und K^+-Ausscheidung der Probanden. Dies geht sowohl aus den Ergebnissen der Na^+- und K^+-Bestimmung im Urin als auch aus den gegenüber der Kontrolluntersuchung kaum veränderten Na^+/K^+-Quotienten hervor (s. Tab. 35 - 37).

3.2.2.4. Stoffwechselprodukte von Kaliumcanrenoat im Blutplasma und Urin

Es wurde bereits erwähnt, daß sich der biologisch aktive Spirono-

von der 1. bis 6. Std]

Behandlungen	Kaliumcanrenoat-dosis mg/Std	mg/kg·Std	Fraktionen (Std) Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	0	197,2	132,8	49,0	23,8	27,2	29,2	28,8	46,4	106,8
Aldosteron (83,3 µg/Std , i.v., 1. - 6. Std)	0	0	164,0	115,0	29,2	20,2	11,4	9,2	8,0	15,8	39,4
Aldosteron + Kaliumcanrenoat (i.v.,1.-6.Std)	50	~0,65	166,8	108,0	11,0	12,8	14,6	13,6	15,4	39,8	95,2
	100	~1,30	153,4	82,2	18,6	17,6	27,0	29,4	31,4	32,0	96,8
	≦200	2,60	157,4	68,6	22,4	22,2	43,6	28,0	36,0	66,2	110,0
Kaliumcanrenoat (i.v.,1.-6.Std)	50	~0,65	136,6	95,4	26,8	24,2	42,0	37,2	39,0	91,0	135,6
	100	~1,30	159,2	109,4	21,8	24,8	33,2	41,0	40,8	58,4	155,4
	≦200	2,60	166,0	123,4	24,6	22,8	30,6	37,8	55,0	93,0	160,8
Varianzanalyse: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen			-	-	-	-	-	++	++	++	++
Tukey-Test: Grenzdifferenz zwischen zwei Gruppen für $p \leq 0,05$								19,8	25,1	59,4	71,9
für $p \leq 0,01$								23,9	30,2	71,6	86,6
Gemeinsame Standardabweichung (s)			55,4	64,9	19,8	8,02	17,9	9,6	12,2	28,9	34,9

TABELLE 36: Einfluß von Aldosteron und/oder Kaliumcanrenoat auf die Kaliumkonzentration im Urin (mval/l) bei fünf gesunden Probanden während einer kontinuierlichen intravenösen und oralen Flüssigkeitsbelastung.

[$\bar{x}$, Statistik: Varianzanalyse und Tukey-Test; i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. bis 6. Std]

Behandlungen	Kaliumcanrenoat-dosis mg/Std	mg/kg·Std	Fraktionen (Std) Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	0	57,3	46,6	19,7	9,4	9,4	9,1	7,4	10,6	23,0
Aldosteron (83,3 µg/Std, i.v., 1. - 6. Std)	0	0	54,5	41,6	19,8	22,4	18,4	17,3	13,2	28,8	55,0
Aldosteron + Kaliumcanrenoat (i.v., 1.-6. Std)	50	~0,65	77,1	45,6	10,4	13,8	16,9	13,3	16,3	23,2	48,8
	100	~1,30	48,1	29,9	11,2	11,6	13,6	15,6	13,6	14,7	31,6
	≦200	2,60	56,1	21,7	11,1	13,1	20,3	10,0	27,6	34,16	65,3
Kaliumcanrenoat (i.v., 1.-6. Std)	50	~0,65	61,1	33,7	9,5	9,4	12,6	9,4	8,3	17,9	24,4
	100	~1,30	85,0	40,1	8,9	8,3	8,8	9,0	7,7	10,2	25,6
	≦200	2,60	75,8	57,9	14,3	10,5	9,9	9,9	13,4	23,5	42,3
Varianzanalyse: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen			-	-	-	++	-	+	-	+	-
Tukey-Test: Grenzdifferenz zwischen zwei Gruppen für $p \leq 0,05$						9,0		9,1		25,3	
für $p \leq 0,01$						10,9					
Gemeinsame Standardabweichung (s)			30,2	23,6	10,9	4,4	8,6	4,4	13,4	12,3	28,9

Probanden während einer kontinuierlichen intravenösen und oralen Flüssigkeitsbelastung.

[$\bar{x}$, Statistik: Varianzanalyse und Tukey-Test; i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. bis 6. Std]

Behandlungen	Kaliumcanrenoat-dosis mg/Std	mg/kg·Std	Fraktionen (Std) Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	0	3,41	2,46	2,95	2,80	3,22	3,31	4,32	3,43	4,93
Aldosteron (83,3 µg/Std, i.v., 1. - 6. Std)	0	0	3,36	2,87	1,16	0,98	0,63	0,61	0,69	0,48	0,71
Aldosteron + Kaliumcanrenoat (i.v., 1.-6.Std)	50	~ 0,65	2,64	2,52	0,87	1,35	0,90	1,05	1,37	1,80	1,96
	100	~ 1,30	3,13	3,35	1,88	1,62	2,37	2,03	2,43	2,04	3,18
	≤200	2,60	3,17	3,11	1,98	1,86	2,48	3,27	3,49	3,10	3,67
Kaliumcanrenoat (i.v., 1.-6.Std)	50	~ 0,65	2,33	2,77	2,78	2,55	3,43	4,06	4,81	5,27	5,61
	100	~ 1,30	2,08	2,62	2,53	3,16	3,95	4,70	5,51	5,38	6,25
	≤200	2,60	3,15	2,34	1,70	2,09	3,06	3,90	4,37	4,30	4,59
Varianzanalyse: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen			-	-	++	++	++	++	++	++	++
Tukey-Test: Grenzdifferenz zwischen zwei Gruppen für $p \leq 0,05$					1,31	1,53	1,79	1,94	2,02	2,65	1,95
für $p \leq 0,01$					1,58	1,85	2,16	2,34	2,43	3,19	2,35
Gemeinsame Standardabweichung (s)			1,31	1,26	0,64	0,75	0,87	0,94	0,98	1,29	0,95

Abbildung 14.1.

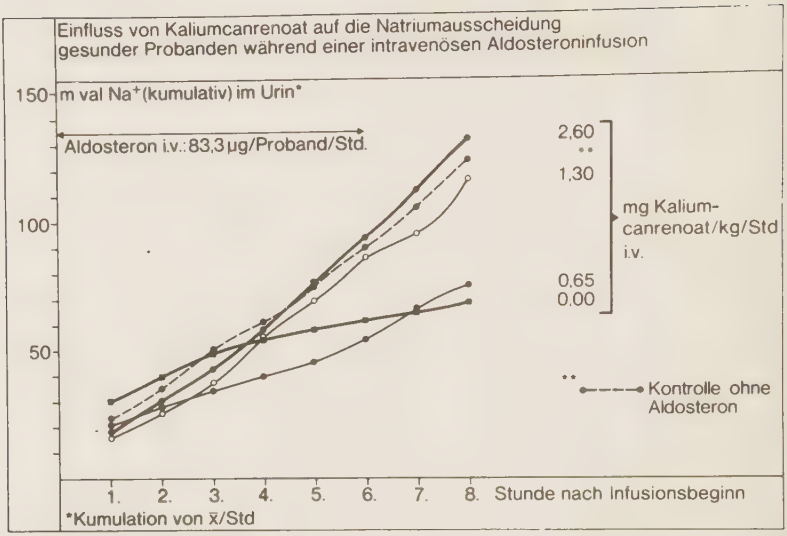


Abbildung 14.2.

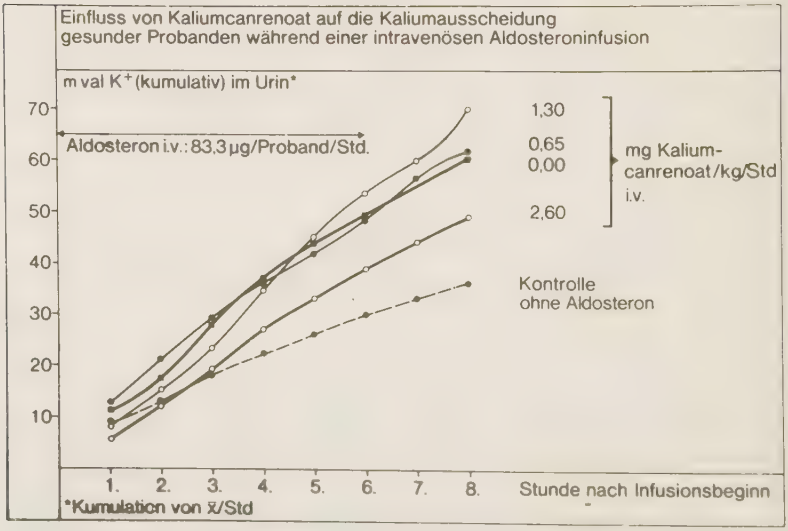


TABELLE 38: Ergebnisse der Regressionsanalyse zur Charakterisierung der Dosiswirkungsbeziehungen für Kaliumcanrenoat bei gesunden Probanden.

Berechnungsgrundlage: Na^+- bzw. K^+-Konzentration im Urin und daraus ermittelter Na^+/K^+-Quotient bei Infusion von Aldosteron (83,3 µg/Std) und Kaliumcanrenoat (50, 100 oder ⩽ 200 mg/Std entsprechend ≈0,65, ≈1,30 oder 2,60 mg/kg/Std) für 6 Std

Bedeutung der Symbole: + = signifikante und lineare Dosiswirkungsbeziehung bei logarithmischer Transformation der Dosis,
- = keine signifikante oder keine lineare Dosiswirkungsbeziehung unter diesen Bedingungen.

Variable	Fraktion (Std)								
	V.W.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
$[Na^+]$ µval/ml	-	-	-	+	-	+	+	-	-
$[K^+]$ µval/ml	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Na^+/K^+	-	-	+	-	-	+	+	-	+

lactonmetabolit Canrenon im Organismus in einem Gleichgewicht mit Canrenoat befindet. Wie die im Abschnitt 3.2.2.2. erwähnten Ergebnisse zeigen, liegt dieses Gleichgewicht bei Gabe von Spironolacton sowohl im Plasma als auch im Urin auf seiten des Canrenons. Wird demgegenüber wie im vorliegenden Fall Kaliumcanrenoat kontinuierlich zugeführt, so ist mit einer Verschiebung dieses Gleichgewichtes zugunsten des Canrenoats zu rechnen.

Die in den Tabellen 39 - 42 angegebenen Ergebnisse entsprechen diesen Erwartungen. Während der kontinuierlichen intravenösen Infusion von Kaliumcanrenoat konnte zu beiden Untersuchungszeitpunkten (2 und 5 Std nach Beginn der Zufuhr) mehr Canrenoat als Canrenon im Plasma nachgewiesen werden. Daß die Verschiebung dieses sonst auf seiten des Canrenons liegenden Gleichgewichtes von der Konstanz der Substanzzufuhr abhing, ging daraus hervor, daß 2 Std nach Abbruch der intravenösen Infusion, d.h. 8 Std. nach Infusionsbeginn im Vergleich zum Canrenon nicht mehr wesentlich erhöhte Canrenoatkonzentrationen gemessen wurden. Wie bei Behandlung mit Spironolacton war die Höhe der Konzentration beider Steroide von der infundierten Dosis abhängig (Tab. 39 und 40). Hierbei fiel auf, daß auch innerhalb der obersten Dosisgruppe, bei der zwar pro kg Körpergewicht gleiche, damit aber absolut unterschiedliche Mengen an Kaliumcanrenoat infundiert wurden, Unterschiede angedeutet waren, die auf eine Abhängigkeit der Plasmakonzentration von der zugeführten Absolutdosis hinweisen. Zur Verdeutlichung dieser Beobachtung werden bei der graphischen Darstellung des Konzentrationsverlaufes für Canrenon im Plasma (Abb. 15) je zwei Probanden, die entsprechend ihrem Gewicht 1000 oder 1200 mg erhalten haben, gesondert aufgeführt.

Die im Urin gemessene Ausscheidungsrate, bei der Canrenon, Canrenoat und Canrenoatglucuronid gemeinsam erfaßt wurden, erreichte zwischen der 4. und 6. Std nach Infusionsbeginn ihr jeweiliges Maximum, das bis zum Untersuchungsende (2 Std nach Beendigung der Dauerinfusion) aufrecht erhalten wurde (Tab. 41 und 42).

Erwartungsgemäß lag der Zeitpunkt, zu dem die Ausscheidungsrate einen weitgehend konstanten Wert annahm, bei Zufuhr der geringeren Dosis etwas früher als bei Infusion der obersten Dosisstufe. Bei Aufteilung der Probanden nach den unterschiedlichen Gesamtdosen deutete sich in dieser Gruppe analog zur Plasmakonzentration eine Abhängigkeit des ausgeschiedenen Canrenoats und seiner Metabolite von der Absolutdosis an, wie aus der in Abbildung 16 dargestellten Kumulationskurven hervorgeht. Die insgesamt innerhalb von 8 Std ausgeschiedene Menge war im Verhältnis zur verabreichten Dosis gering. Sie betrug ungefähr 6 - 8 % des zugeführten Canrenoats. Die An- oder Abwesenheit von Aldosteron in der Infusionsflüssigkeit hatte weder auf die Canrenon-/Canrenoatkonzentration im Plasma, noch auf die renale Elimination von Canrenon, Canrenoat und Canrenoatglucuronid einen Einfluß (vgl. Tab. 39 und 40, sowie Tab. 41 und 42). Die in den Abbildungen 15 und 16 enthaltenen Ergebnisse stammen aus den Versuchen mit Aldosteroninfusion.

2.2.5. Wirksamkeitsvergleich von Spironolacton und ZK 62 355

An diesem Teil der Studie nahmen 5 der 6 Probanden teil, die schon zur Untersuchung mit Spironolacton herangezogen worden waren. Die Behandlung mit 3 verschiedenen Dosen des Spironolactonderivates ZK 62 355 (100 mg, 400 mg oder 1200 mg) war Teil der Gesamtstudie, die für diese Probanden aus insgesamt 11 Teiluntersuchungen bestand (s. Methodik). Da ein Proband wegen eines Ausfalls für die Beurteilung von ZK 62 355 ausschied, basiert der Wirksamkeitsvergleich nur auf den Ergebnissen , die an den übrigen fünf Probanden erbracht wurden.
ZK 62 355 wurde wie Spironolacton 1,5 Std vor Infusionsbeginn p.o. verabreicht. Die Infusion - sie erfolgte hierbei mit Aldosteronzusatz - und die orale Wasserbelastung wurden im übrigen wie bei den vorher beschriebenen Untersuchungen vorgenommen.

TABELLE 39: Canrenon- und Canrenoatkonzentration (ng/ml) im Blutplasma gesunder Probanden während und nach einer intravenösen Infusion von Kaliumcanrenoat (und Aldosteron)

(** entsprechend 2 Std nach Infusionsende)

Kalium-canrenoat-gesamt-dosis in 6 Std	Statist. Kenn-größen	Vorwert		3		6		8**	
				Stunden nach Infusionsbeginn					
		Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat
300 mg (~3,9 mg/kg) n = 5	$\bar{x}$	3,1	1,0	553	3659	1166	2825	593	713
	s	5,2	2,2	115	1113	493	615	185	167
	$s_{\bar{x}}$	2,3	1,0	51	498	220	275	83	75
600 mg (~7,75 mg/kg) n = 5	$\bar{x}$	0	3,8	1335	6749	2394	9214	1347	1837
	s	0	6,1	587	1809	694	4509	625	534
	$s_{\bar{x}}$	0	2,7	262	819	311	2016	280	239
(~1090 mg) 15,5 mg/kg n = 5	$\bar{x}$	4,0	1,2	2216	10762	3536	15932	2418	3649
	s	5,9	2,2	343	4387	299	6141	1109	1833
	$s_{\bar{x}}$	2,6	1,0	153	1962	134	2746	496	820

TABELLE 40: Canrenon- und Canrenoatkonzentration (ng/ml) im Blutplasma gesunder Probanden während und nach einer intravenösen Infusion von Kaliumcanrenoat (ohne gleichzeitige Zufuhr von Aldosteron)
(** entsprechend 2 Std nach Infusionsende)

Kalium-canrenoat-gesamt-dosis in 6 Std	Statist. Kenn-größen	Vorwert		3		6		8**	
				Stunden nach Infusionsbeginn					
		Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat	Canrenon	Canrenoat
300 mg (~3,9 mg/kg) n = 5	$\bar{x}$	7,6	5,2	591	3027	1076	2969	611	699
	s	17,0	11,1	191	815	157	869	61	220
	$s_{\bar{x}}$	7,6	4,9	95	407	70	389	27	99
600 mg (~7,75 mg/kg) n = 5	$\bar{x}$	5,4	5,6	1364	7795	2420	8434	1535	1901
	s	6,3	8,0	204	593	535	3774	510	953
	$s_{\bar{x}}$	2,8	3,6	102	296	239	1679	228	426
(~1090 mg) 15,5 mg/kg n = 5	$\bar{x}$	43,4	28,0	2450	13289	3219	14219	2381	3640
	s	62,3	49,5	1255	4823	2019	7529	716	1357
	$s_{\bar{x}}$	27,9	22,1	561	2157	903	3367	320	607

TABELLE 41: Ausscheidung von Canrenoat und Stoffwechselprodukten des Canrenoats (Canrenon, Canrenoatglucuronid) [µg/Std] im Urin gesunder Probanden während und nach einer intravenösen Infusion von Kaliumcanrenoat mit Aldosteronzusatz
[* 1.bzw. ** 2.Std nach Beendigung der Infusion]

Kalium-canrenoat-dosis in 6 Std	Statist. Kenn-größen	Vorwert	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.*	8.**
			Stunde nach Infusionsbeginn							
300 mg (~3,9 mg/kg) n = 5	$\bar{x}$	3,5	247	1191	2021	2280	4009	4054	4620	5007
	s	6,2	128	358	893	970	585	1877	2007	1656
	$s_{\bar{x}}$	2,7	57	179	364	434	261	839	897	740
600 mg (~7,75 mg/kg) n = 5	$\bar{x}$	8,5	485	3137	3306	7266	6046	8185	7448	10782
	s	11,7	284	2716	1296	2212	1618	3620	2061	2868
	$s_{\bar{x}}$	5,2	127	1214	579	989	723	1619	1030	1434
(~1090 mg) 15,5 mg/kg n = 5	$\bar{x}$	4,7	1120	3514	3692	7537	9483	11627	13723	15881
	s	5,1	853	967	2050	3878	2556	4795	5467	8153
	$s_{\bar{x}}$	2,3	381	432	917	1734	1143	2145	2445	3646

Canrenoatglucuronid) [µg/Std] im Urin gesunder Probanden während und nach einer intravenösen Infusion von Kaliumcanrenoat ohne Aldosteronzusatz
[* 1. bzw. ** 2.Std nach Beendigung der Infusion]

Kalium-canrenoat-dosis in 6 Std	Statist. Kenn-größen	Vorwert	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.*	8.**
			Stunde nach Infusionsbeginn							
300 mg (~3,9 mg/kg) n = 5	$\bar{x}$	11,1	260	1841	2049	3621	2826	4487	4250	3623
	s	9,2	140	1934	802	1294	1441	1972	1340	904
	$s_{\bar{x}}$	4,1	63	865	359	579	645	882	599	404
600 mg (~7,75 mg/kg) n = 4	$\bar{x}$	11,3	1554	2247	4303	5157	6845	7520	7793	8609
	s	11,0	2045	599	1398	1207	1783	2515	2218	6290
	$s_{\bar{x}}$	5,5	1022	300	699	603	892	1258	1109	3145
(~1090 mg) 15,5 mg/kg n = 5	$\bar{x}$	8,6	1333	2642	4889	7371	8435	12505	10605	9885
	s	8,1	592	2086	1753	4513	4246	5843	6240	6317
	$s_{\bar{x}}$	3,6	265	933	784	2018	1899	2613	2791	2825

Abbildung 15

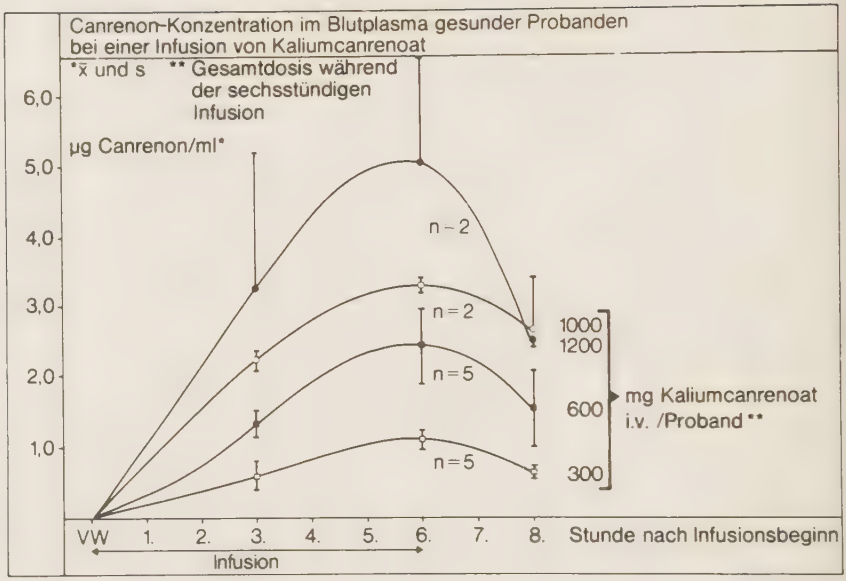
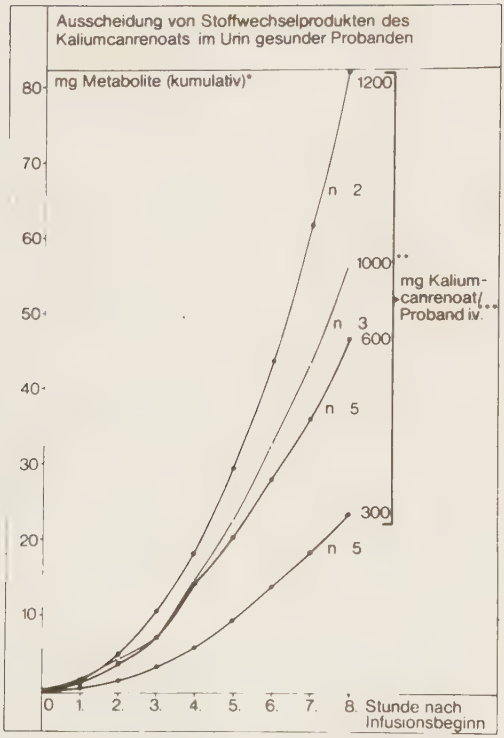


Abbildung 16



*Kumulation von $\bar{x}$; Metabolite: Canrenon, Canrenoat und Canrenoat-Glucuronid

**1000 und 1050 mg-Dosis gemeinsam

***Gesamtdosis während der sechsstündigen Infusion

Die Ergebnisse der primären Daten, d.h. der Natrium- und Kaliumkonzentrationen im Urin, wurden mit Hilfe der Varianzanalyse ausgewertet und auf den Tabellen 43 und 44 dargestellt. Aus den Abbildungen 17.1. und 17.2. gehen die unter dem Einfluß von ZK 62 355 gemessenen Gesamtelektrolytausscheidungen hervor.

Von der 3. Stunde an waren signifikante Unterschiede im Na^+-gehalt des Urins zwischen den verschiedenen Gruppen nachweisbar. Beim paarweisen Versuch zwischen den einzelnen Gruppen waren allerdings nicht alle numerisch deutlichen Differenzen im einzelnen mit einem höchstens 5 %igem Irrtumsrisiko zu sichern. Insgesamt ergab sich jedoch die Aussage, daß sowohl Spironolacton als auch ZK 62 355 die unter Aldosteroneinfluß niedrigen Natriumkonzentrationen im Urin erhöhten, wobei die verschiedenen Dosen mit wenigen Ausnahmen eine graduell abgestufte Wirkung zeigten (Tab. 43). Die Dosisabhängigkeit der natriumeliminierenden Wirkung von ZK 62 355 wird bei kumulativer Auftragung der absolut ausgeschiedenen Natriumionen besonders deutlich (Abb. 17.1.). Ein Vergleich mit entsprechenden Kurven für Spironolacton (s. Abb. 11.1.) demonstriert das prinzipiell gleichartige Verhalten beider Präparate, wobei allerdings im Gegensatz zur Standardsubstanz mit der höchsten Dosis von ZK 62 355 das Kontrollniveau nicht überschritten wurde.

Die Bestimmungen der Kaliumkonzentration im Urin ergaben zwar für die 6. - 8. Std signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungen (Tab. 44). Da aber kein eindeutiger Aldosteroneffekt (Erhöhung des Kaliumgehaltes) erkennbar war, lassen sich aus der isolierten Betrachtung dieser Größe keine Schlüsse über die Wirksamkeit beider Spironolactonderivate ziehen. Dies gilt auch für die unter Berücksichtigung der ausgeschiedenen Volumina errechneten absolut eliminierten Kaliumionen, die in der Abbildung 17.2. für ZK 62 355 kumulativ aufgetragen wurden. In ähnlicher Weise wie bei der Behandlung mit

Spironolacton (vgl. Abb. 11.2.) bilden alle 5 Kurven eine eng beieinander liegende Schar, aus der weder eine deutliche Aldosteronwirkung noch ein für einen Wirksamkeitsvergleich geeigneter Antialdosteroneffekt abgelesen werden kann.

Einen eindeutigen und für die Beurteilung der relativen Wirksamkeit beider Substanzen verwertbaren dosisabhängigen antimineralocorticoiden Effekt von Spironolacton und ZK 62 355 ergab jedoch die statistische Auswertung der Na^+/K^+-Quotienten im Urin. Sie erfolgte mit Hilfe von Regressionsanalysen (Berechnung und Vergleich von Dosiswirkungsgeraden bei logarithmischer Auftragung der Dosen). Wie aus der Tabelle 45 hervorgeht, bewirkte Aldosteron eine Senkung der Na^+/K^+-Quotienten bis zu maximal 1/10 des Kontrollwertes. Beide Substanzen reduzierten diese Wirkung dosisabhängig, wobei sich zu jedem Meßzeitpunkt ab der 3. Std die zur Erzielung des gleichen Effekts notwendigen Dosen signifikant unterschieden.

Die mittlere Potency von ZK 62 355 schwankte im Vergleich zu Spironolacton (= 1,0) zwischen 0,26 und 0,12, d.h. zwischen 26 und 12 % der Wirksamkeit des Standardpräparates. Daß hierfür - entsprechend den im vorigen Abschnitt erwähnten Befunden - primär Veränderungen in der Natriumausscheidung ausschlaggebend sind, zeigt eine gleichartige Auswertung der kumulativen Natriumausscheidung (Tab. 46). Zwar waren wegen größerer Streuungen die ermittelten Wirksamkeitsrelationen nur zu einem Zeitpunkt mit einem Irrtumsrisiko von ≤ 5 % ($p \leq 0{,}05$) zu sichern. Numerisch lagen die Potencyangaben jedoch zu allen Zeitpunkten in der gleichen Größenordnung wie die entsprechende Werte, die für die Na^+/K^+-Quotienten errechnet wurden.

Die geringere "Potency" von ZK 62 355 kommt u.a. darin zum Ausdruck, daß selbst mit der höchsten Dosierung in der Phase der vollen Ausprägung des Aldosteroneffekts (5. - 8. Std) keine vollständige "Schutzwirkung" gegenüber dem infundierten Hormon zu erzielen war (s. Tab. 45), während mit 800 mg Spironolacton das Kontrollniveau (weitgehend) erreicht (s. Tab. 45) oder tendenziell sogar überschritten wurde (s. Tab. 46).

Unter Berücksichtigung der aus den Regressionsanalysen ermittelten Wirksamkeitsunterschiede läßt sich für jede Dosis beider Spirolactone die pro Zeitpunkt erzielbare Höhe des Na^+/K^+-Quotienten im Urin (- unter den gewählten Untersuchungsbedingungen -) errechnen. Auf der Abbildung 18 wurde eine derartige Berechnung für eine gleiche - im gemeinsamen mittleren Bereich liegende - Dosis von 500 mg (p.o.) durchgeführt. Man erkennt deutlich, daß vom Beginn der Infusion an in dieser Dosierung Spironolacton das Absinken der Na^+/K^+-Quotienten erheblich stärker behindert als ZK 62 355. Der auf dieser Abbildung zunächst etwas verwirrende Verlauf der Kontrollkurve kommt dadurch zustande, daß der mittlere Ausgangswert gerade bei diesem Abschnitt der Studie niedriger lag als bei den übrigen Untersuchungen.

Die bei den gesunden Probanden auf der Basis der Na^+/K^+-Quotienten im Urin bestimmte Differenz in der relativen Wirksamkeit von ZK 62 355 und Spironolacton stimmt in der Größenordnung mit entsprechenden Werten überein, die bei adrenalektomierten Ratten ermittelt wurden (vgl. Tab. 45 mit Tab. 5). Diese gute Übertragbarkeit der im Tierexperiment erkennbaren Wirksamkeitsunterschiede auf den Menschen und damit die Eignung des an adrenalektomierten Ratten aufgebauten Versuchsmodells für eine Abschätzung der Wirksamkeit neuer Spirolactonderivate am Menschen geht auch noch aus einem anderen Auswertungsverfahren hervor. Um Unterschiede im zeitlichen Verlauf der Wirkungen möglichst auszugleichen und einen für die ersten 6 Stunden repräsentativen Eindruck zu gewinnen, wurden hierzu die individuellen Quotienten aus der jeweiligen Natrium- und Kaliumgesamtausscheidung/Tier bzw. Proband gebildet und statistisch ausgewertet.

In beiden Fällen bestanden signifikante und (bei log. Transformation der Dosen) lineare Dosiswirkungsbeziehungen für ZK 62 355 und Spironolacton. Mit 23 % bzw. 42 % der "Potency" von Spironolacton und weitgehender Überlappung der Vertrauensbereiche zeigte die als Testsubstanz ausgewählte Verbindung ZK 62 355 sowohl im Tierexperiment als auch am Menschen eine um mehr als den Faktor 2 geringere aldosteronantagonistische Wirksamkeit als das Standardpräparat (Tab. 47).

Die Dosen, mit denen diese übereinstimmenden Ergebnisse erzielt wurden, lagen ebenfalls in der gleichen Größenordnung, da sich die jeweiligen Grenzbereiche überlappten [Spironolacton: 6,6 - 26,4 mg/kg (adrenalekt. Ratten), 0,65 - 10,4 mg/kg (gesunde Probanden); ZK 62 355: 13,2 - 52,8 mg/kg (adrenalekt. Ratten), 1,3 - 15,5 mg/kg (gesunde Probanden)] und die infundierten Aldosteronmengen sogar nahezu identisch waren [Ratten: 1 µg/kg/Std., Probanden: 83,3 µg/Std. entsprechend 1,1µg/kg/Std] (s. Tab. 47).

2.6. Als Anhang sind in Tabelle 48 die bei den verschiedenen Teilstudien bzw. Teilauswertungen gemessenen Harnflußraten aufgeführt.

TABELLE 43 : Einfluß von Spironolacton oder ZK 62 355 auf die Natriumkonzentration im Urin (mval/l) fünf gesunder Probanden bei intravenöser Dauerinfusion von Aldosteron

[$\bar{x}$, Statistik: Varianzanalyse und Tukey-Test; i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. bis 6. Std]

Behandlungen	Spirolactondosis mg/Prob., p.o., 1,5 Std v. Infusionsbeginn	Fraktionen (Std)								
		Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	159,2	74,2	27,4	22,2	31,4	24,2	32,8	57,2	86,2
Aldosteron (83,3 µg/Std , i.v., 1. - 6. Std)	0	161,6	115,4	18,8	8,8	7,8	7,4	7,6	10,4	15,0
Aldosteron + Spironolacton	50	143,0	87,0	25,0	26,2	17,8	17,4	13,0	22,2	83,4
	200	197,6	140,4	35,2	30,0	32,4	28,4	20,8	67,0	110,0
	800	158,4	95,2	32,8	37,4	46,8	38,6	39,0	72,4	101,0
Aldosteron + ZK 62 355	100	116,6	63,0	21,8	17,2	14,8	10,8	9,6	15,4	29,6
	400	157,2	88,0	25,6	26,6	31,6	20,0	25,0	31,4	44,6
	1200	134,0	72,2	26,6	25,0	28,8	26,6	20,6	40,0	107,6
Varianzanalyse: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen		-	-	-	++	++	++	++	++	++
Tukey-Test: Grenzdifferenz zwischen zwei Gruppen für $p \leq 0,05$					18,8	26,2	22,6	21,1	60,0	83,5
für $p \leq 0,01$					22,7	31,5	27,3	29,4	73,3	100,6
Gemeinsame Standardabweichung (s)		50,4	62,6	11,3	9,1	12,7	11,0	10,3	29,2	40,6

fünf gesunder Probanden bei intravenöser Dauerinfusion von Aldosteron

[$\bar{x}$, Statistik: Varianzanalyse und Tukey-Test; i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. bis 6. Std]

Behandlungen	Spirolactondosis mg/Prob., p.o., 1,5 Std v. Infusionsbeginn	Fraktionen (Std)								
		Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	65,6	25,7	10,1	13,2	10,5	7,0	6,8	12,6	17,6
Aldosteron (83,3 µg/Std , i.v., 1. - 6. Std)	0	41,7	26,0	11,3	11,5	12,4	10,0	11,8	16,2	19,6
Aldosteron + Spironolacton	50	52,8	26,0	8,9	16,8	12,8	13,9	13,2	30,1	80,4
	200	54,4	34,9	9,6	9,3	10,7	9,6	8,2	21,3	36,6
	800	54,1	28,1	10,3	10,5	13,6	10,3	8,9	14,6	22,7
Aldosteron + ZK 62 355	100	49,3	16,9	9,5	13,7	14,5	11,6	12,0	23,2	44,5
	400	58,1	24,2	8,8	12,4	18,1	14,6	19,9	31,2	41,8
	1200	32,6	12,1	7,5	10,0	13,5	12,0	11,4	29,7	68,7
Varianzanalyse: signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen		-	-	-	-	-	-	++	++	++
Tukey-Test: Grenzdifferenz zwischen zwei Gruppen für $p \leq 0,05$								10,1	18,9	47,4
für $p \leq 0,01$								12,2	22,8	57,1
Gemeinsame Standardabweichung (s)		21,8	17,3	4,0	7,5	6,1	4,3	4,9	9,2	23,0

TABELLE 45: Einfluß von Spironolacton oder ZK 62 355 auf die Na^T/K^T-Quotienten im Urin bei fünf gesunden Probanden während einer i.v. Dauerinfusion von Aldosteron
[$\bar{x}$; Statistik: Regressionsanalyse (Berechnung der Dosiswirkungsgeraden), ** unter Berücksichtigung des Vorwertes und der Ergebnisse der Kontrolluntersuchungen; i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. - 6. Std; Symbole ohne Zeichen: Auswertung nicht möglich, - $p > 0,05$, + $p \leq 0,05$]

Behandlungen	Spirolactondosis mg/Prob., p.o., 1,5 Std v. Infusionsbeginn	Fraktionen (Std)								
		Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	2,63	2,33	3,60	2,59	3,54	4,24	5,31	5,82	5,39
Aldosteron (83,3 µg/Std, i.v., 1. - 6. Std)	0	4,81	4,75	2,07	0,92	0,73	0,74	0,70	0,66	0,50
Aldosteron + Spironolacton	50	3,25	4,09	3,31	1,96	1,74	1,00	1,00	0,80	0,97
	200	4,26	4,16	3,59	3,16	3,07	2,77	2,72	2,92	3,46
	800	3,28	3,87	3,63	3,86	3,82	4,07	4,30	4,77	4,77
Aldosteron + ZK 62 355	100	2,81	4,01	2,34	1,24	1,03	0,96	0,91	0,64	0,65
	400	2,86	3,89	3,28	2,28	1,86	1,43	1,40	1,09	1,03
	1200	3,37	4,74	3,36	3,25	3,09	2,74	2,53	2,32	2,19
Signifikante Dosisabhängigkeit bei log. Transformation der Dosen (Spir./ZK)		-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Signifikante Abweichung von der Parallelität der Dosiswirkungsgeraden					-	-	-	-	-	-
Wirkungsunterschied zwischen Spironolacton und ZK 62 355					+	+	+	+	+	+
Relative Wirksamkeit ** (Potency) von ZK 62 355 im Vergleich zu Spironolacton (=1,0)					0,261	0,219	0,245	0,211	0,165	0,122
mit 95%-Vertrauensgrenzen (V.G.) obere V.G.					0,780	0,632	0,651	0,622	0,446	0,553
untere V.G.					0,055	0,044	0,063	0,040	0,034	0,002

im Urin (mval) fünf gesunder Probanden während einer i.v. Dauerinfusion von Aldosteron

[$\bar{x}$; Statistik: Regressionsanalyse (Berechnung der Dosiswirkungsgeraden), i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. - 6. Std; Symbole ohne Zeichen: Auswertung nicht möglich, - $p > 0{,}05$, + $p \leq 0{,}05$]

Behandlungen	Spirolactondosis mg/Prob., p.o., 1,5 Std v. Infusionsbeginn	Fraktionen (Std)								
		Vorw.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Kontrolluntersuchung	0	23,8	24,3	41,4	56,1	68,7	83,1	104,0	120,0	133,5
Aldosteron (83,3 µg/Std , i.v., 1. - 6. Std)	0	40,9	18,7	28,7	33,0	36,7	40,4	44,8	48,3	51,7
Aldosteron + Spironolacton	50	28,9	21,0	36,5	49,8	59,6	66,7	72,3	76,3	82,0
	200	51,6	25,8	40,6	58,7	75,6	87,1	103,0	111,6	121,4
	800	31,4	21,4	41,9	63,7	83,5	105,0	122,5	137,5	157,1
Aldosteron + ZK 62 355	100	16,6	11,3	22,7	30,7	40,3	47,9	60,0	67,3	73,0
	400	28,8	22,5	38,1	55,5	68,0	80,2	86,7	92,2	97,5
	1200	19,3	18,1	32,7	51,8	69,2	87,7	101,2	111,5	116,7
Signifikante Dosisabhängigkeit bei log. Transformation der Dosen (Sp./ZK)		-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Signifikante Abweichung von der Parallelität der Dosiswirkungsgeraden					-	-	-	-	-	-
Wirksamkeitsunterscheid zwischen Spironolacton und ZK 62 355					-	-	-	-	+	-
Relative Wirksamkeit (Potency) von ZK 62 355 im Vergleich zu Spironolacton (=1,0)					0,201	0,220	0,276	0,268	0,274	0,190
mit 95%-Vertrauensgrenzen (V.G.)	obere V.G.				1,733	1,153	1,004	1,174	0,201	1,067
	untere V.G.				0,0004	0,009	0,045	0,028	0,0298	0,0042

Abbildung 17.1.

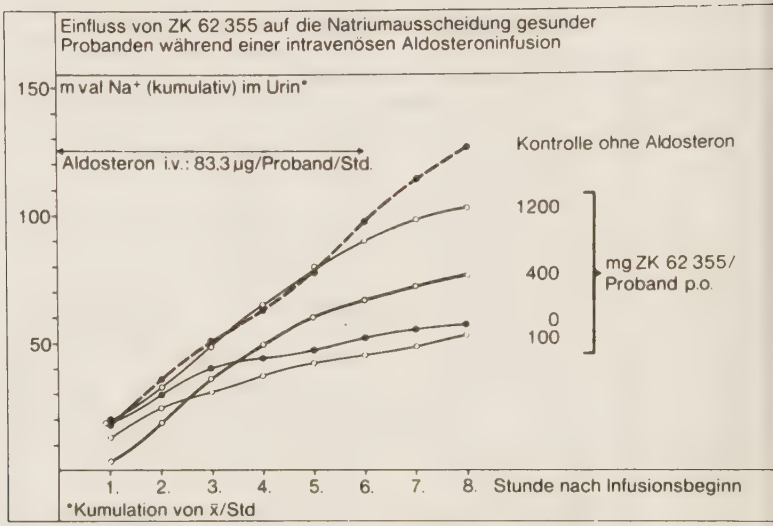


Abbildung 17.2.

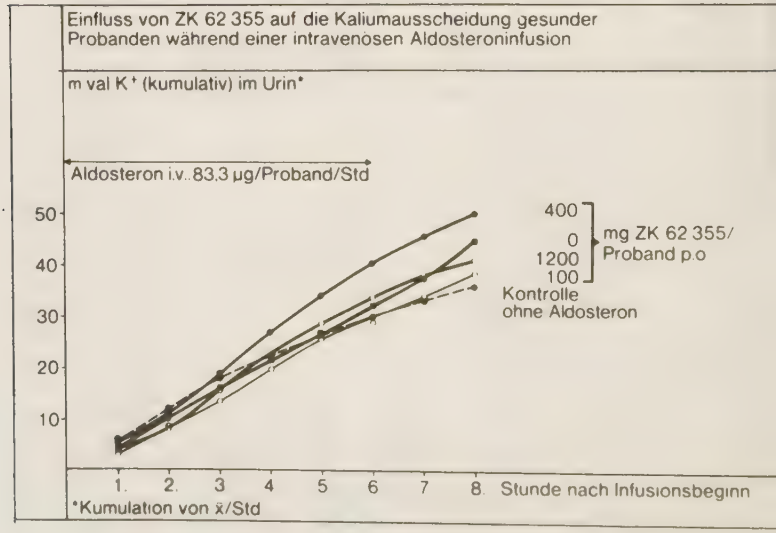
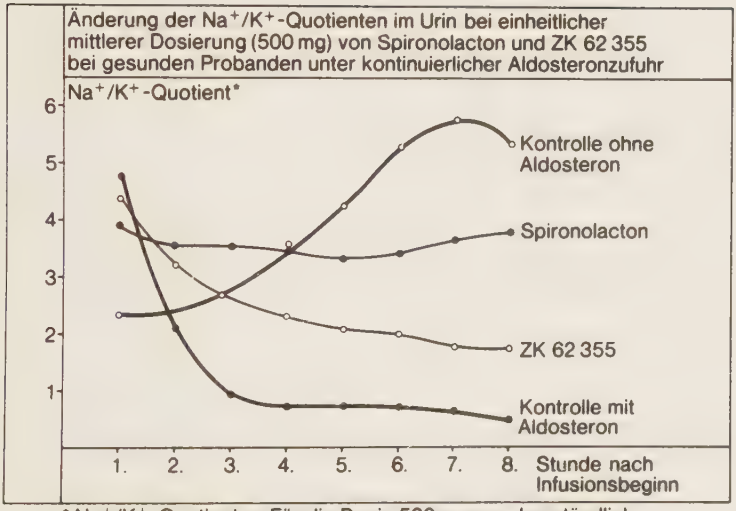


Abbildung 18



* Na^+/K^+-Quotienten: Für die Dosis 500 mg aus den stündlich berechneten Regressionswerten beider Präparate; für die Kontrolluntersuchungen mit und ohne Aldosteroninfusion: Mittelwerte der einzelnen Stunden.

TABELLE 47: Vergleich der aldosteronantagonistischen Wirksamkeit von Spironolacton und ZK 62 355 an adrenolektomierten Ratten und an gesunden Probanden während einer intravenösen Aldosteroninfusion.
Bewertungsgrundlage: Quotient aus der Natrium- und Kaliumausscheidung über 6 Stunden

$$\left[\frac{\sum_{1\ Std}^{6\ Std} [Na^+]x\text{Vol}}{\sum_{1\ Std}^{6\ Std} [K^+]x\text{Vol}}\right].$$

[Regressionsanalysen bei linearer Auftragung der Wirkung und logarithmischer Auftragung der Dosen; * unter Verwendung der mittleren Gewichte]

Modell	Adrenolektomierte Ratten						Gesunde Probanden					
Aldosteron-Antagonist	Spironolacton			ZK 62 355			Spironolacton			ZK 62 355		
Dosen: mg/Tier bzw. Proband mg/kg*	~1 6,6	~2 13,2	~4 26,4	~2 13,2	~4 26,4	~8 52,8	50 ~0,65	200 ~2,6	800 ~10,4	100 ~1,3	400 ~5,2	1 ~
n	8	8	8	8	8	8	5	5	5	5	5	
$\bar{x}$	1,98	2,34	3,62	1,78	1,99	3,60	2,12	3,23	3,86	1,62	2,48	
s	0,58	0,91	1,39	0,50	0,66	1,21	0,76	1,13	1,54	0,53	0,83	
$s_{\bar{x}}$	0,21	0,32	0,49	0,18	0,23	0,43	0,34	0,51	0,69	0,24	0,37	
Regressionswerte	1,83	2,65	3,46	1,54	2,46	3,37	2,20	3,07	3,94	1,81	2,21	
95% Vertrauensgrenzen	1,14- 2,52	2,21- 3,08	2,78- 4,15	0,94- 2,15	2,07- 2,84	2,76- 3,97	1,18- 3,21	2,43- 3,71	2,93- 4,95	1,13- 2,50	1,70- 2,72	
Dosiswirkungsbeziehung (log. Dosen)	linear ($p \leq 0,05$)			linear ($p \leq 0,05$)			linear ($p \leq 0,05$)			linear ($p \leq 0,05$)		
Vergleich der Dosiswirkungsgeraden	keine signifikante Abweichung von der Parallelität ($p > 0,05$)						keine signifikante Abweichung von der Parallelität ($p > 0,05$)					
Relative Wirksamkeit von ZK 62 355 gegenüber Spironolacton (=1,0)	0,42 ($p \leq 0,05$)						0,23 ($p \leq 0,05$)					
95% Vertrauensgrenzen	0,25 - 0,68						0,02 - 0,82					

: Einfluß von Aldosteron und/oder Antialdosteronen auf die Harnausscheidung (ml/Std) gesunder Probanden während einer kontinuierlichen i.v. und oralen Flüssigkeitsbelastung
$[\bar{x} + s_{\bar{x}}]$; i.v. und orale Flüssigkeitszufuhr von der 1. bis 6. Std; Aldosteron und Kaliumcanrenoat i.v. Infusion von der 1. bis 6. Std; Statistik (U-Test): keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen /Zeit und Studie]

gen	Stat. Kenngrössen	Fraktionen (Std)								
		Vorwert	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
		1. Prüfung von Spironolacton (n = 6)								
ntersu-	$\bar{x}$	170,0	334,2	568,3	600,0	486,7	567,5	529,2	290,0	164,0
	s	95,7	220,6	122,8	234,4	226,8	75,6	260,9	196,7	70,2
	$s_{\bar{x}}$	39,1	90,1	50,1	95,7	92,6	30,9	106,5	80,2	31,4
n (Ald.)	$\bar{x}$	261,7	286,7	500,8	505,8	517,5	563,3	532,5	320,8	234,2
td	s	108,2	283,0	185,4	88,1	135,0	199,4	134,?	82,6	150,2
	$s_{\bar{x}}$	44,2	115,6	75,7	35,9	55,1	81,4	54,8	33,7	61,3
ronolacton	$\bar{x}$	205,8	269,2	547,0	498,3	515,0	456,7	422,5	193,0(n=5)	126,7
mg	s	140,7	128,6	247,3	206,4	165,5	179,0	96,8	96,4	121,2
	$s_{\bar{x}}$	57,5	52,5	112,0	84,3	67,6	73,1	39,5	43,1	49,5
ronolacton	$\bar{x}$	235,8	219,2	450,0	625,8	539,2	486,7	660,0	168,3	113,3
mg	s	126,5	124,8	76,0	169,6	106,9	211,3	245,4	53,8	73,7
	$s_{\bar{x}}$	51,7	50,9	31,0	69,2	43,6	86,2	100,2	22,0	30,1
ronolacton	$\bar{x}$	213,3	281,7	610,8	571,7	456,7	539,2	499,2	215,0	178,3
mg	s	138,3	212,9	249,8	169,3	151,0	170,7	170,1	61,6	72,9
	$s_{\bar{x}}$	56,4	86,9	102,0	69,1	61,6	69,7	69,5	25,2	29,8
ton	$\bar{x}$	139,2	227,5	630,0	510,8	407,3	410,0	497,5	281,7	140,0
	s	158,2	170,7	306,6	96,8	115,2	135,4	118,1	115,9	86,2
	$s_{\bar{x}}$	64,6	69,7	125,2	39,5	47,0	55,3	48,2	47,3	35,2
ton	$\bar{x}$	148,3	274,2	567,5	536,7	583,3	575,8	461,7	251,7	162,5
	s	100,1	183,9	286,9	159,1	130,6	206,8	159,2	96,6	59,5
	$s_{\bar{x}}$	40,9	75,1	117,1	64,9	53,3	84,4	65,0	39,5	24,3
ton										
	$\bar{x}$	85,0	211,7	524,2	510,8	510,8	540,0	695,0	280,8	149,2
	s	18,7	199,1	206,1	151,7	127,4	157,0	203,0	149,1	93,1
	$s_{\bar{x}}$	7,6	81,3	84,1	61,9	52,0	64,1	82,9	60,9	38,0
		2. Prüfung von Kaliumcanrenoat (n = 5)								
tersu-	$\bar{x}$	188,0	259,0	355,0	588,0	419,0	478,0	505,0	462,5(n=4)	181,0
	s	138,5	194,9	165,4	243,8	129,2	57,6	154,7	386,6	123,5
	$s_{\bar{x}}$	61,9	87,2	74,0	109,0	57,8	25,8	69,2	193,3	55,2
(Ald.)	$\bar{x}$	316,0	299,0	482,5(n=4)	481,0	476,0	406,0	458,0	221,3(n=4)	102,0
d	s	282,7	100,2	283,6	49,6	56,0	68,0	34,9	98,0	25,9
	$s_{\bar{x}}$	126,4	44,8	141,8	22,2	25,0	30,4	15,6	49,0	11,6
iumcanre-	$\bar{x}$	191,0	187,0	588,0	478,4	350,0	477,0	527,4	369,0	94,0
mg/kg/Std	s	98,9	40,6	252,2	128,4	99,2	107,7	210,4	145,0	27,3
	$s_{\bar{x}}$	44,2	18,1	112,8	57,4	44,4	48,2	94,1	64,9	12,2
iumcanre-	$\bar{x}$	294,0	210 0	576,0	626,0	715,0	424,0	531,0	317,5	227,0
mg/kg/Std	s	280,8	96,5	224,7	198,8	235,6	104,3	149,4	125,5	141,5
	$s_{\bar{x}}$	125,6	43,2	100,5	88,9	105,4	46,7	66,9	62,7	63,3
iumcanre-	$\bar{x}$	217,0	300,0	648,0	564,0	562,0	659,0	601,0	354,0	238,4
g/kg/Std	s	126,6	160,5	207,7	225,2	285,5	253,0	292,9	216,0	163,7
	$s_{\bar{x}}$	56,6	71,7	92,9	100,7	127,7	113,2	131,0	96,6	73,2
enoat	$\bar{x}$	189,0	203,0	464,0	703,0	553,0	388,0	480,0	243,0	159,0
g/Std	s	122,0	87,6	178,7	146,8	152,8	115,8	271,8	128,7	69,0
	$s_{\bar{x}}$	54,6	39,2	79,9	65,7	68,4	51,8	121,5	57,6	30,8
enoat	$\bar{x}$	296,0	210,0	648,0	592,0	552,0	554,0	475,0	341,0	208,0
/Std	s	182,2	143,2	181,0	93,7	242,5	120,8	153,6	118,7	154,2
	$s_{\bar{x}}$	81,5	64,0	81,0	41,9	108,5	54,0	68,7	53,1	69,0
enoat	$\bar{x}$	215,0	186,0	453,0	550,0	601,0	542,0	538,0	244,0	110,0
/Std	s	203,3	73,8	224,0	79,7	80,0	67,6	260,1	130,5	62,9
	$s_{\bar{x}}$	90,9	33,0	100,2	35,6	35,8	30,2	116,3	58,4	28,1

Fortsetzung von TABELLE 48

Behandlungen	Stat. Kenngrössen	Fraktionen (Std)								
		Vorwert	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8
		3. Vergleich Spironolacton - ZK 62 355 (n = 5)								
Kontrolluntersuchung	$\bar{x}$	157,0	365,0	599,0	618,0	454,0	589,0	595,0	332,0	16
	s	100,9	231,8	108,5	257,3	237,3	60,7	229,2	187,0	8
	$s_{\bar{x}}$	45,1	103,7	48,5	115,1	106,1	27,1	102,5	83,6	4
Aldosteron (Ald.). 83,3 µg/Std	$\bar{x}$	302,0	328,0	548,0	487,0	505,0	543,0	559,0	319,0	27
	s	49,2	295,5	162,1	83,9	147,0	215,9	131,5	92,2	13
	$s_{\bar{x}}$	22,0	132,2	72,5	37,5	65,7	96,5	58,8	41,2	5
Ald. + Spironolacton 50 mg	$\bar{x}$	213,0	294,0	640,0	492,0	524,0	438,0	413,0	193,0	9
	s	156,1	126,6	170,7	230,2	183,4	193,4	105,1	96,4	9
	$s_{\bar{x}}$	69,8	56,6	76,4	102,9	82,0	86,5	47,0	43,1	4
Ald. + Spironolacton 200 mg	$\bar{x}$	251,0	235,0	424,0	619,0	545,0	512,0	672,0	160,0	12
	s	135,2	132,6	46,3	188,7	118,4	225,8	272,3	55,7	8
	$s_{\bar{x}}$	60,5	59,3	20,7	84,4	53,0	101,0	121,8	24,9	3
Ald. + Spironolacton 800 mg	$\bar{x}$	224,0	322,0	676,0	604,0	448,0	562,0	458,0	220,0	19
	s	151,8	210,9	214,8	167,3	167,1	180,3	153,2	67,6	6
	$s_{\bar{x}}$	67,9	94,3	96,1	74,8	74,7	80,6	68,5	30,2	2
Ald. + ZK 62 355 100 mg	$\bar{x}$	151,0	242,0	575,0	406,0	415,0	398,0	382,0	237,0	14
	s	101,3	118,2	243,7	137,2	46.0	116,8	129,7	158,9	11
	$s_{\bar{x}}$	45,3	52,9	109,0	61,4	20,6	52,2	58,0	71,1	5
Ald. + ZK 62 355 400 mg	$\bar{x}$	182,0	265,0	606,0	641,0	420,0	611,0	275,0	193,0	12
	s	101,3	64,0	185,4	132,9	122.6	78,0	148,8	92,3	7
	$s_{\bar{x}}$	45,3	28,6	82,9	59,4	54,8	34,9	66,6	41,3	3
Ald. + ZK 62 355 1200 mg	$\bar{x}$	205,0	459,0	517,0	674,0	471,0	599,0	531,0	163,0	5
	s	98,2	201,6	136,9	159,5	195,6	119,1	124,7	42,1	3
	$s_{\bar{x}}$	43,9	90,1	61,2	71,3	87,5	53,3	55,8	36,7	1

4. DISKUSSION

Aus den vorliegenden tierexperimentellen und humanpharmakologischen Resultaten ergibt sich, daß das primäre Ziel dieser Arbeit, d.h. die Ausarbeitung einer Untersuchungsmethode zur qualitativen und zeitabhängigen quantitativen Beurteilung der Wirksamkeit von Aldosteronantagonisten am gesunden Menschen erreicht wurde. In gleicher Weise wie bei adrenalektomierten Ratten ließ sich durch intravenöse Dauerinfusion von Aldosteron eine drastische Reduktion der Natriumausscheidung erzielen. In Übereinstimmung mit den Tierversuchen war die kaliumeliminierende Wirkung im Beobachtungszeitraum z.T. schwach bzw. undeutlich ausgeprägt. Der daraus resultierende Abfall der Na^+/K^+-Quotienten im Urin erreichte ein Ausmaß, das aus seiner dosisabhängigen Aufhebung durch Antialdosterone vom Spirolactontyp auf deren relative Wirksamkeit geschlossen werden konnte.

Wie aus den beschriebenen Vergleichsuntersuchungen mit zwei ausgewählten , chemisch ähnlichen Spirolactonderivaten (Spironolacton, ZK 62 355) hervorgeht, stimmten dabei die anhand der Na^+/K^+-Quotienten ermittelten Wirksamkeitsrelationen gut mit den an adrenalektomierten Ratten beobachteten Differenzen in der Potency überein. Das relativ einfache Verfahren erscheint demnach grundsätzlich dafür geeignet, im Tierexperiment ausgewählte neue Wirkstoffe mit aldosteronantagonistischen Eigenschaften nach den erforderlichen (toxikologischen und pharmakokinetischen) Voruntersuchungen auf ihre Wirksamkeit am Menschen zu untersuchen, damit ihre therapeutische Brauchbarkeit zu bewerten und Dosierungsvorschläge für die spätere - erheblich aufwendigere - klinische Prüfung zu erarbeiten. Hierbei kann sowohl die "Potency" im Vergleich zu Standardpräparaten als auch der zeitliche Ablauf der Wirkung und damit das geeignete Dosierungsintervall für die Anwendung am kranken Patienten abgeschätzt werden.

Die Adaptation des im Tierexperiment bereits bewährten Modells der kontinuierlichen Aldosteron- und Flüssigkeitszufuhr (HOLLMANN, SENFT und WERNER, 1964; MARX, 1966; CASALS, BUSE und LOSERT, 1976) auf die speziellen Verhältnisse bei gesunden Versuchspersonen hatte Fragen der Praktikabilität als auch Einflüsse zu berücksichtigen, die aus dem Vorhandensein endogener Mineralocorticoide resultierten. Betrachtet man die vor Beginn der Studie festgelegten Zielvorstellungen (s. Einleitung), so ergab sich allerdings erstaunlicherweise, daß durch das endogene Aldosteron weder das Grundprinzip des Untersuchungsverfahrens beeinträchtigt noch eine nennenswerte Veränderung in technischen Details notwendig wurde. Dies ist vor allem deshalb bemerkenswert, weil im Gegensatz dazu intakte Ratten völlig anders reagieren als adrenalektomierte Tiere der gleichen Species. Im einzelnen ergab sich folgendes Bild:

ad a) Die für die Beurteilung des zeitlichen Wirkungsverlaufes notwendige hohe Harnflußrate ließ sich im Gegensatz zu den Tierexperimenten nicht ausschließlich durch eine intravenöse Flüssigkeitszufuhr hervorrufen. Deshalb mußte eine kombinierte intravenöse und orale Flüssigkeitsbelastung durchgeführt werden. Da die getrunkene Flüssigkeitsmenge hierbei den Ausschlag gab, aber nicht in gleicher Weise so kontinuierlich zugeführt werden konnte wie der intravenös infundierte Anteil, bestand die Gefahr größerer intraindividueller Schwankungen als im Tierexperiment. Sowohl aus den gemessenen Ausscheidungsraten als auch den zur Beurteilung der Substanzeffekte primär herangezogenen Elektrolytkonzentrationen im Urin (Na^+, K^+, µval/ml bzw. mval/l) geht jedoch hervor, daß dieser Faktor keinen wesentlichen Einfluß ausübte. Abgesehen davon handelte es sich bei den humanpharmakologischen Untersuchungen um verbundene Testanordnungen. Da jeweils am gleichen Probanden alle zu einer Studie gehörenden Prüfungen durchgeführt wurden und die einzelnen Versuchspersonen bei den mehrfachen Untersuchungen annähernd gleich reagierten, konnte der Einfluß systematischer

intraindividueller Schwankungen bei der statistischen Auswertung eliminiert werden.

ad b) In bezug auf die für einen ausreichend starken Mineralocorticoideffekt notwendigen Aldosterondosis ergab sich eine gute Übereinstimmung zwischen den Tierversuchen und humanpharmakologischen Prüfungen. Die in der Hauptstudie bei gesunden Probanden verwendete Dosis entspricht auf Gewichtsbasis (pro kg Körpergewicht) der für adrenalektomierte Ratten nach intensiven Voruntersuchungen (CASALS, BUSE und LOSERT, 1976) als optimal ermittelten Dosierung. Sowohl das Ausmaß als auch der zeitliche Ablauf der Aldosteronwirkung änderte sich im Tierexperiment nicht mehr bei einer Dosissteigerung von 1 auf 1,67 µg/kg/Std (entsprechend ~0,15 auf ~0,25 µg/Tier/Std). Dagegen wurden mit geringeren Zufuhrraten sowohl schwächer ausgeprägte als auch langsamer einsetzende Abnahmen des Na^+/K^+-Quotienten beobachtet. Die wirksame Grenzdosis (Erniedrigung des Na^+/K^+-Verhältnisses im Urin auf 50 % des Kontrollwertes nach sechsstündiger Dauerinfusion) lag bei 0,027 µg/kg/Std (entsprechend ~0,004 µg/Tier/Std).

Bei der vorliegenden humanpharmakologischen Studie wurde zwar eine Voruntersuchung zur Ermittlung geeigneter Dosen für die verschiedenen Testsubstanzen durchgeführt, eine ähnlich exakte Prüfung der Dosisabhängigkeit des Aldosteroneffekts wie im Tierexperiment war jedoch aus Praktikabilitätsgründen nicht möglich. Dies betrifft vor allem die Festlegung der minimal erforderlichen Dosis. Nach den Ergebnissen der Vorstudie ist allerdings klar, daß bei einer Erhöhung der Aldosterondosis von insgesamt 0,5 mg/6 Std (= 83,3 µg/Std) auf 3,5 mg/6 Std (0,5 mg vorab i.v., anschließend 0,5 mg/Std) der mineralocorticoide Effekt des Hormons nicht mehr zunimmt, also die gewählte Dosierung auf keinen Fall zu niedrig war. Die von PAUNIER, BORGEAUD und WYSS (1972) mitgeteilten Dosierungen (1 mg i.v., Infusion von weiteren 3 mg in 2 Std), die als Grundlage der Voruntersuchungen gewählt wurden, sowie von anderen Autoren verwendete hohe Aldosterondosen (AUGUST, NELSON und THORN, 1958: 3 x 3 oder 3 x 6 mg / Tag i.m.) sind danach zur Erzielung eines maximalen Effekts

bei gesunden Personen nicht erforderlich. Die vorliegenden Ergebnisse stimmen in dieser Hinsicht mit Resultaten von LEVIN und CADE (1965) überein, die bei Probanden bzw. Patienten ohne Mangel an endogenem Aldosteron nach einer einmaligen i.v. Injektion von 0,5 oder 1 mg eine deutliche Abnahme des Na^+/K^+- Quotienten im Urin gemessen haben.

Angaben über die Dosierung von Mineralocorticoiden beim Menschen finden sich außerdem noch in einer Reihe anderer Publikationen. Sie eignen sich jedoch nicht für eine vergleichende Bewertung mit den in dieser Studie erhaltenen Ergebnissen, da entweder andere Steroide verwendet wurden (9α-Fluorcortisol: NOEL und LEAHY, 1962; ROSS, 1962; RAMSAY, HARRISON, SHELTON und TIDD, 1975) oder Patienten mit einer Nebennierenrindeninsuffizienz (Morbus Addison), also einem endogenen Aldosterondefizit, zu den Untersuchungen herangezogen wurden (NORMAN und VOGT, 1963; GREENBERG, McNAMARA und McCRORY, 1967; ROSS, REDDY, RIVERA und THORN, 1959).

Auch wenn möglicherweise noch eine weitere Senkung der verwendeten Aldosterondosierung möglich gewesen wäre, wurde auf jeden Fall bereits ein so niedriges Niveau erreicht, daß mit noch verträglichen Antialdosterondoesen der erzielte Mineralocorticoideffekt aufgehoben werden konnte. Da es sich um einen kompetitiven Antagonismus am "Mineralocorticoidrezeptor" handelt (FUNDER, MARVER, STEWART, FELDMAN and EDELMAN, 1975), hängt der sichtbare Nettoeffekt vom Konzentrationsverhältnis des Agonisten zum Antagonisten am Wirkort ab. Hiermit stimmen sowohl alle am Warmblüter (HERKEN, 1969; s. dort weit. Lit.) als auch an der isolierten Krötenharnblase (Bufo marinus, PORTER, 1968)erhobenen pharmakologischen Befunde überein. Dies bedeutet, daß bei einer Dosissteigerung des Agonisten - auch wenn bereits zuvor ein nicht mehr steigerbarer maximaler mineralocorticoider Effekt erzielt wurde - auch die Zufuhr des Antagonisten erhöht werden muß, um die gleiche Nettowirkung zu erhalten. Mit den beiden Standardantialdosteronen (Spironolacton und Kaliumcanrenoat)

konnte im vorliegenden Fall jeweils in (gerade noch) verträglicher Dosierung die Wirkung des exogen verabreichten Aldosterons aufgehoben werden.

Wie ein Vergleich mit den Versuchen an adrenalektomierten Ratten zeigt, bestehen zwar Unterschiede in der absoluten Höhe der wirksamen Dosen an beiden Species, die Dosierungen liegen insgesamt jedoch in der gleichen Größenordnung. Die Übereinstimmung war hierbei nach Anwendung des intravenös infundierten Kaliumcanrenoats besonders groß [Dosisbereich bei gleicher Aldosteronzufuhr (~ 1 µg/kg/Std): ~0,65 - ~1,3 - 2,6 mg/kg/Std (Mensch), 1,3 - 2,6 - 5,3 mg/kg/Std (adrenalekt. Ratten]. Die etwas geringere Überlappung der jeweils wirksamen Dosisbereiche für die beiden oral applizierten Substanzen Spironolacton und ZK 62 355 (s. 3.2.2.5., Seite 132) könnte danach in erster Linie auf Unterschiede in der Resorptionsgeschwindigkeit bei Mensch und Tier zurückgeführt werden, da unterschiedliche Formulierungen verwendet wurden (mikronisierte Substanz in Gelatinekapseln versus Suspension).

Die im Tierexperiment an adrenalektomierten Ratten für eine prozentual hochgradige Senkung der Na^+/K^+-Quotienten durch infundiertes Aldosteron als optimal erkannten Bedingungen (Zufuhr einer Na^+-armen bzw. Na^+-freien Lösung) erwiesen sich auch bei gesunden Probanden als günstig. Entsprechend der zuvor geäußerten Annahme traten während der Beobachtungszeit von 8 Std als Folge der aufgetretenen Natriumverluste noch keine Zeichen einer erhöhten Aldosteronsekretion auf. Sie hätten sich in der Kontrolluntersuchung ohne Aldosteroninfusion in einem Abfall des Na^+/K^+-Quotienten äußern müssen. Tatsächlich stieg das Konzentrationsverhältnis zwischen beiden Elektrolyten aber innerhalb des achtstündigen Meßzeitraumes teilweise an oder blieb zumindest gleich. Da innerhalb dieses Zeitraumes bei alleiniger Infusion von Aldosteron keine Wirkungsabnahme des Hormons

im Sinne eines "escape"-Phänomens festzustellen war, erscheint damit grundsätzlich auch die Möglichkeit gegeben, die Untersuchung noch auf einen längeren Zeitraum auszudehnen. Dies wäre zur genaueren Beurteilung der Wirkungsdauer von Spirolactonderivaten erforderlich. Bei der auf 8 Stunden begrenzten Studie ließ sich zwar für alle drei Prüfsubstanzen der Wirkungseintritt sehr gut verfolgen, und in allen Fällen wurde auch das jeweilige Wirkungsmaximum erreicht. Unter Berücksichtigung der bei den Kontroll- und Aldosteroninfusionen gemessenen Grenzwerte war jedoch für keine Substanz ein eindeutiges Abklingen des pharmakologischen Effektes festzustellen. Dieser Frage muß in zusätzlichen Humanuntersuchungen bei längerer Infusions- und Beobachtungsdauer nachgegangen werden.

ad d) Die Versuchsanordnung eignet sich sowohl für die Bewertung oral applizierbarer Antialdosterone als auch von Spirolactonabkömmlingen, die zur parenteralen Verabreichung vorgesehen sind. Die hier praktizierte i.v. Dauerinfusion von Kaliumcanrenoat lehnt sich weitgehend an das für die klinische Anwendung empfohlene Verfahren an. Vor allem wegen möglicher Unverträglichkeitsreaktionen, wie sie auch im vorliegenden Fall bei zu schneller Gabe der höchsten Dosis beobachtet werden, soll Kaliumcanrenoat entweder sehr langsam i.v. injiziert oder - als Zusatz zu Elektrolytlösungen bei der Behandlung postoperativer Störungen des Mineral- und Wasserhaushalts - i.v. infundiert werden (SCHULTIS, 1968; ECKART, HÄRING und KARAJANNIS, 1968).

Abgesehen davon wäre mit großer Wahrscheinlichkeit bei einmaliger i.v. Injektion noch verträglicher Dosen nur eine schwache kurzfristige und damit für einen Wirksamkeitsvergleich mit anderen Substanzen nicht geeignete pharmakologische Wirkung aufgetreten. Es fällt auf, daß bei sonst nicht unterschiedlichen Versuchsbedingungen (Flüssigkeitsbelastung, Aldosterondosen) durch die protrahierte i.v. Zufuhr der zwei oberen Kaliumcanrenoatdosen (600 und ~1090 mg) in absoluter

Höhe weitgehend gleiche Veränderungen in der Natrium- und Kalium-
ausscheidung bewirkt werden wie durch die einmalige orale Ein-
nahme von (50 -) 200 mg Spironolacton 1 1/2 Std vor Infusionsbe-
ginn. Wie aus den Tabellen 27 - 29 und 35 - 37 sowie den Abbildungen
1 und 14 hervorgeht, betrifft diese Übereinstimmung nicht nur das
Ausmaß des pharmakologischen Effekts, sondern auch dessen jeweiligen
zeitlichen Ablauf. Für die Notwendigkeit der jeweiligen kontinuier-
lichen Zufuhr von Kaliumcanrenoat sprechen auch Ergebnisse von Ver-
suchen, die von CASALS und BUSE (1976) beim Aufbau des tierexperi-
mentellen Modells durchgeführt wurden. Sie injizierten adrenalekto-
mierten Ratten nahezu gleiche Kaliumcanrenoatdosen zu Beginn oder
während der Aldosteroninfusion i.v. (6,6 - 13,2 - 26,4 mg/kg), wie
sie bei den hier mitgeteilten Experimenten insgesamt während 6 Stun-
den zugeführt wurden (7,9 - 15,8 - 31,7 mg/kg). Hierbei war entweder
überhaupt keine oder nur eine angedeutete, flüchtige aldosteronanta-
gonistische Wirkung festzustellen. Der oder die biologisch aktiven
Metabolite des Kaliumcanrenoats werden demnach offensichtlich so
schnell eliminiert oder inaktiviert, daß eine für einen längeren Effekt
ausreichende Wirkstoffkonzentration im Blut bei i.v. Gabe nur durch
kontinuierliche Zufuhr aufrecht erhalten werden kann.

Da neue wasserlösliche Aldosteronantagonisten sinnvollerweise zunächst
mit Kaliumcanrenoat als dem "klassischen" Standardpräparat verglichen
werden sollten, kann damit - bei Verwendung des vorgestellten Modells -
auf die i.v. Dauerinfusion nicht verzichtet werden. Soweit tierexperi-
mentell neu synthetisierte Analoga des Kaliumcanrenoats mit unter-
schiedlichen Strukturabwandlungen untersucht wurden (CASALS und BUSE,
1976), wurde in dieser Beziehung bisher in keinem Fall ein vom Standard
generell abweichendes Verhalten beobachtet.

ad e) Sieht man davon ab, daß die oberste Spironolactondosis (800 mg) nicht nur die Wirkung des infundierten Aldosterons vollständig aufgehoben, sondern tendenziell auch eine geringe, darüber hinausgehende Erhöhung der Natriumausscheidung bewirkt hat, so war der Effekt aller Antialdosterone auf die Wirkungsverminderung des zugeführten Mineralocorticoids beschränkt. Hiermit stimmt gut überein, daß Spironolacton und Kaliumcanrenoat ohne gleichzeitige Aldosteroninfusion ebenfalls nur angedeutete Eigenwirkungen zeigten, die mit einem Antagonismus gegenüber dem endogenen Aldosteron erklärt werden müssen.

Dieser Befund ist sehr wesentlich, da er zeigt, daß unter den gewählten Bedingungen, insbesondere dem hier verwendeten Dosierungsverhältnis von Agonist und Antagonisten, tatsächlich eine Art "Titration" des infundierten Hormons stattfindet und bei der Auswertung keine so wesentliche Beeinträchtigung der endogenen Aldosteronwirkung zu befürchten ist, daß sie als Störfaktor zu berücksichtigen wäre. Bei Einhaltung der angegebenen Standardbedingungen und äquivalenter Dosierung neuer Prüfsubstanzen (entsprechend den Resultaten an adrenalektomierten Ratten) dürften sich damit routinemäßige Kontrolluntersuchungen der einzelnen Antialdosterondosen ohne Aldosteronbelastung erübrigen.

Dieses Verhalten stimmt im wesentlichen auch mit den Ergebnissen anderer Autoren überein. So beobachteten HOFMANN, POLK und MAIBACH(1975 bei zweimaliger täglicher Injektion von 200 mg Kaliumcanrenoat - über mehrere Tage gegeben - nur einen geringen oder überhaupt keinen Anstieg der Natriumausscheidung gesunder Probanden. Bei nahezu gleicher Versuchsanordnung registrierten MROCZEK, DAVIDOV, HOROSCHAK und FINNERTY (1974) mit den gleichen Kaliumcanrenoatdosen eine mäßige Erhöhung der Natriumelimination. Hierbei ist zu berück-

sichtigen, daß jeweils die gesamte innerhalb von 24 Std ausgeschiedene Natriummenge registriert wurde. Bei einer Extrapolation auf die stündliche Ausscheidungsrate ergibt sich eine weitgehende Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen.

Das gleiche gilt für Befunde, die ERBLER (1974) bei gesunden Probanden mit täglicher Applikation von 5 mg/kg (~350 - 400 mg) und 10 mg/kg (~ 700 - 880 mg) Spironolacton erhob. Die ohne Zufuhr von exogenen Mineralocorticoiden registrierte Natriumausscheidung war dosisabhängig (~ 40 mval bzw.~ 70 mval innerhalb des ersten Tages) und entsprach bei Umrechnung auf die stündliche Ausscheidungsrate etwa den geringen Natriummengen, die auch bei dieser Studie, insbesondere mit der höheren Dosis (800 mg), als "Eigeneffekt" gemessen wurde.

Bei längerer Versuchsdauer und höherer Dosierung müßte nach den Ergebnissen von Erbler allerdings dieser durch Wechselwirkung mit dem endogenen Aldosteron zustande kommende "Eigeneffekt" speziell geprüft und berücksichtigt werden. Hierbei spielt es keine Rolle, ob es sich dabei um den bekannten kompetetiven Antagonismus am Mineralocorticoidrezeptor handelt, oder ob Spironolacton bzw. seine Metabolite zusätzlich noch die Biosynthese von Aldosteron inhibieren, wie dies von ERBLER (1972, 1973a, 1973b, 1974) aufgrund von in vivo- und in vitro-Untersuchungen postuliert wird. Unabhängig davon, ob Aldosteron primär nicht zur Verfügung steht oder vom Wirkort verdrängt wird, würden sich für den pharmakologischen Effekt auf den Natriumtransport die gleichen Folgen daraus ergeben.

d f) Aus den Ergebnissen der Metabolitbestimmungen in Serum und Urin lassen sich einige Schlußfolgerungen als Beitrag zu der bisher nicht eindeutig geklärten Frage ziehen, ob Canrenon tatsächlich als der aktive Metabolit von Spironolacton bzw. Kaliumcanrenoat anzusehen ist oder lediglich die Funktion eines Indikators für das "aktive" Prinzip darstellt.

Ein Vergleich der Canrenonkonzentrationen im Serum der Probanden mit dem pharmakologischen Effekt der beiden Standardpräparate bestätigt zunächst, daß grundsätzlich eine Beziehung zwischen beiden Größen besteht, wie sie aufgrund der Tatsache zu erwarten war, daß Canrenon biologisch aktiv ist (s. HERKEN, 1969) und sowohl aus Spironolacton als auch aus Canrenoat im Organismus gebildet wird (KARIM, ZAGARELLA, HUBSELL, CHAO und BALTES, 1976; KARIM, ZAGARELLA, HRIBAR und DOOLEY, 1976; SADÉE, DAGCIOGLU und SCHRÖDER, 1973; SADÉE, ABSHAGEN, FINN und RIETBROCK, 1974).

Diese Übereinstimmung beschränkte sich allerdings auf die Qualität der jeweiligen Dosiswirkungsbeziehung. Nach Gabe beider Substanzen ging die dosisabhängige aldosteronantagonistische Wirkung mit ebenso dosisabhängigen Steigerungen der Canrenonkonzentration im Serum einher.

Betrachtet man jedoch die absolute Höhe der gemessenen Metabolitkonzentrationen, so ergibt sich in Relation zum pharmakologischen Effekt eine deutliche Diskrepanz zwischen beiden Studien. Bei annähernd gleicher Aufhebung der Aldosteronwirkung wurden im Falle des Spironolactons Serumkonzentrationen gemessen, die zwischen maximal 0,1 µg Canrenon/ml (50 mg Sp.) und 1,0 µg Canrenon/ml (800 mg Sp.) lagen, während sie bei Infusion von Kaliumcanrenoat nach 3 und 6 Std 0,6 bzw. 1,1 µg Canrenon/ml (300 mg Gesamtdosis) oder 2,5 bzw. 3,2 µg Canrenon/ml (~1090 mg Gesamtdosis) betrugen. Das gleiche Bild ergibt sich bei der Betrachtung der renal eliminierten Spironolactone. Ihre absolute Menge lag bei Infusion von Kaliumcanrenoat zwischen 20 mg/Proband (unterste Dosis) und 60 - 80 mg/Proband (oberste Dosen). Dagegen wurden nach Gabe von 800 mg Spironolacton nur insgesamt etwas mehr als 20 mg/Proband ausgeschieden. Da die renale Wirkung der Spironolactone von der Wirkstoffkonzentration am Tubulusepithel, d.h. im tubulären Harn, abhängt, stellt die über die Nieren ausgeschiedene Metabolitmenge (HOLLMANN, SENFT und WERNER, 1964) sogar einen noch besseren

Maßstab für die Beurteilung von Dosiswirkungsbeziehungen dar als die Serumkonzentration.

Bezüglich der speziellen Bedeutung des Canrenons ergibt sich im vorliegenden Fall allerdings insofern eine Schwierigkeit, als dieser Metabolit im Urin gemeinsam mit Canrenoat und Canrenoatesterglucuronid erfaßt wurde. Aus der höheren Gesamtausscheidung bei Infusion von Kaliumcanrenoat kann zunächst nicht ohne weiteres auf einen dem gesteigerten Serumgehalt numerisch gleichen Anteil an renal eliminiertem Canrenon geschlossen werden. Nach den Untersuchungen von HOLLMANN, SENFT und WERNER (1964) sowie HOFMANN, ROTHWELL und MAIBACH (1976) wird Canrenon sowohl glomerulär filtriert als auch über den für organische Säuren spezifischen Mechanismus tubulär sezerniert. Beide Vorgänge führen, wenn auch nach unterschiedlichen Gesetzmäßigkeiten und im Falle der tubularen Sekretion nur innerhalb gewisser Grenzen, zu einer von der extracellulären Konzentration abhängigen Ausscheidung der Metabolite in den tubulären Harn. Setzt man voraus, daß sich die drei Metabolite hinsichtlich ihrer Transportfähigkeit nicht unterscheiden, und berücksichtigt man die in allen Fällen weitgehend gleichen Harnflußraten, so muß die Canrenonkonzentration im Tubulusharn in beiden Untersuchungsreihen zumindest weitgehend der Serumkonzentration äquivalent gewesen sein. Möglicherweise lag sie wegen des mit der Infusion verbundenen größeren Canrenoatangebotes sogar proportional höher, da der Harn einen niedrigeren pH (6 - 7) aufwies als das Serum und bekannt ist, daß die chemische Interkonversion von Canrenon und Canrenoat pH-abhängig verläuft. Im sauren Medium wird das Gleichgewicht zugunsten des Canrenons verschoben (SADÉE, DAGCIOGLU und RIEGELMAN, 1972).
Daraus ergibt sich, daß Canrenon zwar als aktiver Metabolit der beiden Standardsubstanzen für orientierende Studien als "Indikator" der Konzentration an biologisch aktiven Metaboliten verwendet werden kann, aber mit größter Sicherheit nicht allein für ihre aldosteronantagonistische Wirkung verantwortlich ist. Zu dem gleichen Schluß

kamen aufgrund ähnlicher Befunde auch RAMSAY, SHELTON, WILKINSON und TIDD (1976), sowie KAGAWA, BOUSKA und ADERSON (1964). KAGAWA und Mitarbeiter beobachteten bei adrenalektomierten Ratten, daß gleiche Dosen von Spironolacton und exogen gegebenem Canrenon (p.o.) zwar nahezu identische Canrenonkonzentrationen im Plasma zur Folge hatten, sich jedoch hinsichtlich des renalen Effekts deutlich unterschieden. Spironolacton erwies sich hierbei stets als wirksamer. Die andere Autorengruppe stellte an gesunden Versuchspersonen fest, daß 100 mg Kaliumcanrenoat bei oraler Gabe zu mäßig geringeren Canrenonkonzentrationen im Plasma führten als eine gleiche Dosis Spironolacton. Pharmakologisch war in einem Fall (Spironolacton) ein erheblicher Effekt, im anderen Fall (Kaliumcanrenoat) dagegen überhaupt keine Wirkung nachweisbar. Diesen Befunden ist noch hinzuzufügen, daß Spironolacton wie Kaliumcanrenoat bei oraler Gabe vom Menschen vollständig resorbiert werden (KARIM, ZAGARELLA, HUTSELL, CHAO und BALTES, 1976, SADÉE, DAGCIOGLU und SCHRÖDER, 1973).

Neben Canrenon müssen daher andere Metabolite als Wirkformen des Spironolacto angesehen werden. Nach Ergebnissen von Rezeptorbindungsstudien, bei denen die spezifische Verdrängung von radioaktiv markiertem Aldosteron durch Antialdosterone an Nierengewebe studiert wurde, besitzt Spironolacton selbst eine erheblich höhere Affinität zum Rezeptorprotein als z.B. Canrenon. Eine Thioacetylgruppe in Position 7 steigerte auch bei Steroiden mit anderer Struktur die Bindungsfähigkeit (FUNDER, FELDMAN, HIGHLAND and EDELMAN, 1974). Da eine Reihe noch thioacetylierter Metabolite des Spironolactons beim Menschen (aber nicht bei der Ratte) im Serum und Urin beschrieben werden (KARIM und BROWN, 1972; ABSHAGEN, RENNEKAMP und LUSZPINSKI, 1976; SADÉE, ABSHAGEN, FINN und RIETBROCK, 1974; KARIM, ZAGARELLA, HRIBAR und DOOLEY, 1976), könnte eine Prüfung ihrer biologischen Wirksamkeit bzw. ihrer spezifischen Bindung an Mineralocorticoidrezeptoren für die weitere Aufklärung der angeschnittenen Frage von Nutzen sein.

In disem Zusammenhang ist bemerkenswert, daß nach humanpharmakologischen Untersuchungen mit ^{3}H-Spironolacton rein quantitativ sowohl im Serum als auch im Urin eine deutliche Differenz zwischen dem Gehalt an Canrenon und der Gesamtmenge an Wirkstoff + Metaboliten (Gesamtradioaktivität) besteht. Dies gilt auch, wenn nur die extrahierbare Gesamtaktivität berücksichtigt wird (KARIM, ZAGARELLA, HRIBAR und DOOLEY, 1976). Nach Befunden von SADÉE, DAGCIOGLU und SCHRÖDER (1973) wird Spironolacton insgesamt nur zu etwa 79 % zu Canrenon metabolisiert, und von der im Urin innerhalb von 5 Tagen ausgeschiedenen Aktivität entfallen nicht mehr als 14 - 24 % der Eingabe auf fluoreszierende Metabolite. Diese Befunde erklären auch den geringen Prozentsatz der verabreichten Dosen, der als fluoreszierendes Material im vorliegenden Fall im Urin innerhalb von 8 Std (9,5 Std) ausgeschieden wurde. Nach ABSHAGEN, RENNEKAMP und LUSZPINSKI (1976) werden bis zur 96. Stunde insgesamt 47 - 57 % der oral verabreichten ^{3}H-Spironolactongesamtaktivität im Urin mit einer Eliminationshalbwertzeit von t/2 = 0,8 Tagen (~ 19 Std) ausgeschieden. Dies bedeutet, daß ca. 50 % der renal eliminierten Menge auf nicht fluoreszierende Abbauprodukte entfallen. Der nicht renal ausgeschiedene Anteil der Gesamtaktivität verläßt den Organismus mit dem Stuhl.

Da im Urin kein unveränderter Wirkstoff nachgewiesen wurde, scheidet Spironolacton selbst trotz seiner hohen Affinität zum "Mineralcorticoidrezeptor" wahrscheinlich als aktiver Wirkstoff aus, wenn man für den Angriff an den Tubulus primär die Konzentration im Harn verantwortlich erklärt.

Ob Canrenon als ausschließliche Wirkform von exogen gegebenem Kaliumcanrenoat anzusehen ist, muß ebenfalls offen bleiben. Da vergleichende Studien über pharmakologische Wirkung und Canrenonkonzentrationen im Blut bzw. Canrenonausscheidung im Urin nach Gabe von Canrenoat und Canrenon nicht durchgeführt wurden, lassen sich hier nur Spekulationen anbringen. Im vorliegende Fall wurde im Serum gegenüber der mit

Spironolacton durchgeführten Untersuchung bei Kaliumcanrenoatinfusion ein erheblich höherer Canrenongehalt nachgewiesen. Für den Urin ist zumindest das gleiche anzunehmen. Canrenon könnte hier also durchaus allein für die aldosteronantagonistische Wirkung verantwortlich gewesen sein.

Andererseits besitzt Canrenoat selbst eine gewisse Affinität zum Mineralocorticoidrezeptor. Sie ist zwar wesentlich geringer als die von Spironolacton, unterscheidet sich aber um weniger als den Faktor 10 von derjenigen des Canrenons. Während $2 \cdot 10^{-7}$ M Canrenon die spezifische Bindung von ^{3}H-Aldosteron an Mineralocorticoidrezeptorprotein enthaltende Gewebsproben ("Typ I"-Rezeptor, cytoplasmatische Bindungsstellen, FUNDER, MARVER, STUART, FELDMAN und EDELMAN, 1975) zu 59 % hemmte, war eine äquivalente Verdrängung (46 % Hemmung) mit Kaliumcanrenoat in einer nur 5fach höheren Konzentration zu erzielen (FUNDER, FELDMAN, HIGHLAND und EDELMAN, 1974). In Anbetracht der sehr hohen Canrenoatkonzentrationen im Serum und damit wahrscheinlich auch im Urin bei der i.v. Infusion des Wirkstoffes könnte die hydrolysierte Form damit zumindest am pharmakologischen Effekt beteiligt gewesen sein.

Die gute Übertragbarkeit der an adrenalektomierten Ratten etablierten Untersuchungsmethode auf den gesunden Menschen steht in deutlichem Gegensatz zu den abweichenden Resultaten, die - bei wesentlich geringeren Modifikationen der Versuchsanordnung - an intakten Ratten erhoben wurden. Hier fällt sowohl die andersartige Reaktion auf exogen zugeführtes Aldosteron als auch der quantitativ und qualitativ sowohl gegenüber den übrigen Untersuchungen als auch zwischen den einzelnen Spirolactonderivaten differierende Effekt der Aldosteronantagonisten auf.

Während bei adrenalektomierten Ratten in gleicher Weise wie bei den gesunden Probanden Aldosteron überwiegend natriumretinierend wirkte, war bei intakten Ratten kaum ein Effekt auf die Natriumausscheidung erkennbar. Dagegen konnte durchaus noch eine zwar ebenfalls nur geringe Wirkung auf die Kaliumelimination nachgewiesen werden. Eine kaliumeliminierende Wirkung von exogenem Aldosteron bei fehlendem natriumeliminierendem Effekt wurde an intakten Ratten auch von MORRIS und Mitarbeitern (MORRIS, BEREK und DAVIS, 1974) sowie an intakten Hunden von BARGER, BERLIN und TULENKO (1958) beobachtet.

Hier zeigt sich eine grundsätzliche Dissoziation zwischen beiden Effekten des Mineralcorticoids, die bei einigen Species - offenbar aber nicht beim Menschen - in Anwesenheit der Nebennieren besonders deutlich hervortritt, aber anhand anderer Kriterien auch am adrenalektomierten Organismus nachgewiesen werden kann. So unterscheiden sich die aldosteronabhängige Beeinflussung des Na^+- und K^+-Transports sowohl hinsichtlich des zeitlichen Verlaufes und der jeweiligen Dosisabhängigkeit als auch hinsichtlich des Wirkungsmechanismus, soweit er bekannt ist.

Im klassischen Kagawa-Test erreichte MARX (1966) bereits mit s.c. Injektion von 0,1 µg d-Aldosteron/Tier bei adrenalektomierten Ratten eine maximale Natriumretention, während die Kaliumelimination erst mit einer fünffach höheren Dosis maximal stimuliert wurde (s. auch HERKEN, 1969). Auf einem absolut höheren Dosisniveau stellten MORRIS, BEREK und DAVIS (1973) an männlichen adrenalektomierten Ratten die gleiche Dissoziation bezüglich der maximal wirksamen Dosis fest. Während die natriumeliminierende Wirkung durch eine aus vielen Studien bekannte Latenzzeit von ca. 60 min charakterisiert ist (BARER, BERLIN und TULENKO, 1958; GANONG und MULROW, 1958; HOLLMANN, SENFT und WERNER, 1964; MARX, 1966; WIEDERHOLT, STOLTE, BRECHT und HIERHOLZER, 1966; MORRIS, BEREK und DAVIS, 1973), tritt der kaliumretinierende Effekt erst frühestens 30 min später auf (MORRIS, BEREK und DAVIS, 1973).

Nach heutiger Ansicht beruht die Latenzzeit zwischen Beginn der Hormoneinwirkung und Auftreten der Natriumretention auf der Tatsache, daß zuvor über einen für Steroidhormone charakteristischen Prozeß die Synthese spezifischer Proteine induziert wird (s. HERKEN, 1969, s. EDELMAN, 1975). Nicht eindeutig geklärt ist bisher, ob es sich bei diesen Proteinen um Enzyme handelt, die die Natriumpermeabilität der luminalen Tubuluszellmembran steigern und damit das Substratangebot für den an der gegenüberliegenden Zellwand lokalisierten aktiven Auswärtstransport erhöhen ("Permease"-Theorie, SHARP und LEAF, 1966a, b) oder um solche Fermente, die eine vermehrte Bereitstellung von Stoffwechselenergie für den aktiven Natriumtransport sorgen (EDELMAN und FIMOGNARI, 1968). Wie jede Enzyminduktion dieser Art ist auch die aldosteronabhängige Steigerung des Natriumtransports durch Inhibitoren der DNA-abhängigen RNA-Synthese (Actinomycin D) hemmbar (FIMOGNARI, FANESTIL und EDELMAN, 1967; WILLIAMSON, 1963; WIEDERHOLT,1966).

Dabei handelt es sich um ein generelles Prinzip. Neben der renalen Wirkung wurden auch an verschiedenen extrarenalen Geweben bzw. Organen von Kalt- und Warmblütern Aldosteroneffekte auf den aktiven Natriumtransfer durch Zellmembranen nachgewiesen, so in vitro an der Harnblase von Bufo marinus (CRABBÉ, 1960) und in vivo an der Leber, Herzmuskulatur, Darmschleimhaut sowie den Schweiß- und Speicheldrüsen (DULCE und GÜNTHER, 1960; LOSERT, SENFT und SENFT, 1964; MOLL und KOCZOREK, 1962; SIEGENTHALER, TRUNIGER, BÄCHTOLD, RHAMBERG und SIEGENTHALER, 1961; SIEGENTHALER, de HALLER, VEYRAT und MULLER, 1962). Diese Effekte, die sich z.B. in einer Abnahme des Natriumgehaltes im Schweiß und Speichel, in einer verminderten enteralen Natriumresorption und einer Zunahme des intracellulären Natriumgehaltes (Leber, Herz) äußern, werden - soweit untersucht - ebenfalls durch Actinomycin D oder einen Hemmstoff der Proteinsynthese (Cycloheximid) verhindert (Krötenblase: FANESTIL und EDELMAN, 1966; Leber: BARTELHEIMER, LOSERT, SENFT und SITT, 1967).

Im Gegensatz dazu wird weder die Hormonwirkung auf den Kaliumtransport in den Nierentubuli noch die an der Leber beobachtete aldosteronabhängige Erhöhung der cellulären Kaliumaufnahme durch Actinomycin D blockiert (FIMOGNARI, FANESTIL und EDELMAN, 1967; BARTELHEIMER, LOSERT, SENFT und SITT, 1967; WIEDERHOLT, BEHN, SCHOORMANS und HANSEN, 1972). Mit Cycloheximid andererseits war zumindest in höherer Dosierung der kaliuretische Effekt von Aldosteron zu unterdrücken (BEHN, HANSEN, WIEDERHOLT und LÜBBEMEIER, 1971). Daraus ist zu schließen, daß Aldosteron seine Wirkung auf den Kaliumtransport durch Vorgänge ausübt, die im Gegensatz zur Beeinflussung des Natriumtransports zwar prinzipiell von der Synthese neuer Proteine, aber nicht deren unmittelbarer Steuerung durch eine DNA-abhängige Neubildung von RNA abhängen. Da in beiden Fällen, sowohl renal als auch extrarenal, aber gleichermaßen Spirolactone aldosteronantagonistisch wirken (MARX, 1966; LOSERT, SENFT und SENFT, 1964; ELMSLIE, MULHOLLAND und SHIELDS, 1966) dürfte auch der Aldosteroneffekt auf den Kaliumtransport durch gleichartige oder ähnliche Rezeptoren vermittelt werden wie die natriumretinierende Wirkung.

Für die längere Latenzzeit zwischen Hormoneinwirkung und Auftreten des kaliuretischen Effektes wird u.a. die zuvor erfolgende Umwandlung von Aldosteron in einen hierfür spezifischeren Metaboliten diskutiert. Ein wesentliches Argument für diese These ist die Beobachtung, daß der kaliuretische Effekt des Hormons eine deutliche Geschlechtsabhängigkeit zeigt, die auf eine Bedeutung von Androgenen für sein Zustandekommen hinweist. Männliche Ratten reagieren mit und ohne Nebennieren auf erheblich niedrigere Aldosterondosen mit einer äquivalenten Kaliumausscheidung als weibliche Ratten. Bei diesen nimmt die geringere Ansprechbarkeit nach Entfernung der Nebennieren noch weiter ab und erreicht ein auch absolut niedrigeres maximales Niveau (MORRIS, BEREK und DAVIS, 1973). Dieser sexualspezifische Unterschied in der Wirkung geht mit Unterschieden im Metabolismus von Aldosteron einher. Während

die spezifische Bindung von ^{3}H-Aldosteron selbst an cytoplasmatische Proteine der Niere bei männlichen und weiblichen Ratten nahezu gleich ist, wird bei männlichen Tieren sowohl im Cytoplasma der Niere als auch der Leber eine erheblich höhere Konzentration an einem nicht extrahierbaren polaren (^{3}H-)Aldosteronmetaboliten gefunden (MORRIS, BEREK und DAVIS, 1973a). Hierbei könnte es sich um ein für den kaliuretischen Effekt verantwortliches Steroid handeln, dessen Synthese aus Aldosteron sexualspezifisch erfolgt. Abschließend sei in diesem Zusammenhang noch erwähnt, daß auch nach Mikropunktionsuntersuchungen tubuläre Natriumresorption und Kaliumsekretion sich oft nicht eindeutig reziprok verhalten und auf keinen Fall ein Austausch im Verhältnis 1 : 1 erfolgt (GIEBISCH, 1969; MALNIC, KLOSE und GIEBISCH, 1966).

Aus der unterschiedlichen Regulation des Natrium- und Kaliumtransports durch Aldosteron wäre eigentlich als logische Folge abzuleiten, daß der Na^{+}/K^{+}-Quotient kein geeignetes Maß für die Beurteilung mineralocorticoider und antimineralocorticoider Effekte darstellt. Benutzt man ihn aus traditionellen Gründen dennoch, muß man sich stets darüber klar sein, daß Veränderungen dieser Größe auf lediglich einer der beiden determinierenden Größen zustande kommen können und damit auf unterschiedliche Vorgänge hinweisen. In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, daß verschiedene Spirolactone möglicherweise nicht mit gleicher Intensität die natriumretinierende und kaliumeliminierende Wirkung von Mineralocorticoiden blockieren (RAMSAY, HARRISON, SHELTON und TIDD, 1975). Die vorliegenden Untersuchungen, die nicht speziell unter diesem Aspekt durchgeführt wurden, können zu dieser Frage keinen Beitrag liefern, da die Aldosteroneffekte auf die Kaliumausscheidung meist relativ schwach ausgeprägt waren und deshalb auch keine deutlich voneinander abgehobenen Effekte verschiedener Antialdosterondosen erwarten lassen konnten. Es fällt jedoch auf, daß bei der humanpharmakologischen Prüfung von Kaliumcanrenoat (s.Abb. 14.1. und 14.2.) bereits mit der mittleren Dosierung die natriumretinierende Aldosteronwirkung vollständig aufgehoben wurde, während die erhöhte Kaliumelimination selbst mit der höchsten Dosis noch nicht wieder auf

das Kontrollniveau zurückzudrängen war.

Unklar bleibt nach der bisherigen Kenntnis, warum intakte Ratten auf Zufuhr von exogenem Aldosteron zwar noch vermehrt Kalium eliminieren, aber nicht mehr mit einer Verminderung der Natriumausscheidung reagieren, während beim gesunden Menschen dieser Effekt sogar noch sehr deutlich ausgeprägt ist. Hier kann nur spekuliert werden, daß bei der Ratte im Gegensatz zum Menschen das endogene Aldosteron bereits ausreicht, um eine maximale, durch weitere exogene Zufuhr nicht mehr steigerbare Geschwindigkeit des tubulären Natriumtransports aufrecht zu erhalten. Da der tubuläre Kaliumtransport seine volle Kapazität erst unter der Einwirkung höherer Aldosterondosen erlangt als die hormonabhängige Natriumretention, müßte bei Richtigkeit der ersten Annahme weiter spekuliert werden, daß dieses Maximum bei der Ratte wie beim Menschen unter Normalbedingungen noch nicht erreicht ist. Für die Richtigkeit der ersten Vermutung spricht, daß die Natriumausscheidung der intakten Ratten bereits unter Kontrollbedingungen in ihrer absoluten Höhe so niedrig lag, wie die nach Aldosteron maximal reduzierte Natriumelimination der adrenalektomierten Tiere (vgl. Abb. 2.1. und 6.1.).

In gewissem Gegensatz zur kaliuretischen Wirkung des Aldosterons steht zunächst die Beobachtung, daß bei langdauernder Infusion des Hormons adrenalektomierte Ratten gegen Versuchsende mit einer gegenüber den Kontrollen nicht mehr vermehrten, sondern paradoxerweise verminderten Kaliumausscheidung reagieren. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die renale Kaliumelimination auch vom "Substrat"-, d.h. Kaliumangebot an die Niere abhängt (s. HIERHOLZER und ULRICH, 1969; SENFT, LOSERT, SITT, McEVOY und KAESS, 1966). Die hohe Kaliumausscheidung adrenalektomierter Tiere ist damit z.T. auch indirekte Folge der fehlenden extrarenalen Aldosteronwirkung, die sich in einer Abnahme des intracellulären Kaliumgehalts vieler Organe bei gleichzeitigem Anstieg des Serumkaliums äußert (LOSERT, SENFT und SENFT, 1964; BARTELHEIMER, LOSERT, SENFT und SITT, 1967). Durch Infusion von Aldosteron wird einerseits zwar die

renale Ausscheidung erhöht, zum anderen aber auch Kalium aus dem extra- in den intracellulären Raum verlagert. Die Folge ist ein Absinken der Kaliumkonzentration im Serum und damit des vorher abnorm hohen Kaliumangebots an die Niere. Trotz erhöhter tubulärer Sekretionsrate sinkt damit die Nettoausscheidung unter das Kontrollniveau. Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht, daß im Vergleich zu intakten Ratten die Kaliumkonzentrationen im Urin der adrenalektomierten Tiere unter Aldosteroneinfluß annähernd gleich sind, während sich die jeweiligen Kontrollen drastisch unterscheiden.

Die diskutierten Unterschiede zwischen natriumretinierender und kaliumeliminierender Wirkung von Aldosteron erklären nicht die Differenzen in der unterschiedlichen Reaktion intakter Ratten und gesunder Probanden auf die verschiedenen Spirolactonderivate, da sie nicht in unterschiedlichem Maße die Natrium- und Kaliumausscheidung betrafen.

Das exogen zugeführte Aldosteron zeigte bei den intakten Ratten im Gegensatz zu den gesunden Probanden keine über den 'Kontroll'effekt hinausgehende Natriumretention und innerhalb des 6-Stunden-Versuches keine numerisch so erhebliche Kaliummehrausscheidung, daß aus ihrer Aufhebung Schlüsse über die Wirksamkeit der verwendeten Antialdosterone gezogen werden konnten. Da alle drei Spirolactonderivate bei adrenalektomierten Ratten selbst in der jeweils höchsten Dosierung bestenfalls die Wirkung der infundierten Hormonmenge gerade aufhoben, wäre nach den Gesetzmäßigkeiten des kompetitiven Antagonismus bei intakten Ratten während der Infusion der gleichen - hier wirkungslosen - Hormondosis überhaupt kein pharmakologischer Effekt zu erwarten gewesen.

Dieser Erwartung entsprach nur das Spironolactonderivat ZK 62 355. Spironolacton und Kaliumcanrenoat zeigten demgegenüber sowohl in bezug auf die Natrium- als auch in bezug auf die Kaliumausscheidung eine dosisabhängige antimineralocorticoide Wirkung, die nur durch eine über den kompetitiven Antagonismus an dem oder den renalen

"Mineralocorticoidrezeptoren" (Na^+,K^+) hinausgehende Wechselwirkung mit dem ndogenen Aldosteron erklärt werden können. Eine triamteren- oder miloridartige Eigenwirkung dieser Steroide auf die Natrium- und aliumausscheidung ohne Beteiligung von Aldosteron scheidet nach ntersuchungen an adrenalektomierten Tieren aus (s. HERKEN, 1969, 1969a). ls vorläufig einzige plausible Erklärung dieses Befundes muß daher ie Möglichkeit diskutiert werden, daß Spironolacton und Kaliumcanreoat ihren Effekt an intakten Ratten durch eine dosisabhängige Hemmung er Aldosteronbiosynthese in der Nebenniere bewirkt haben, wie ies als zusätzliche Wirkung des Canrenons bzw. Spironolactons von ERLER (1972, 973a, 1973b, 1974) angenommen wird. Wegen des fehlenden pharmakolo-ischen Effekts des Spironolactonderivates ZK 62 355 bei intakten Ratten ürde dies zugleich bedeuten, daß es sich bei einem derartigen Ein-riff in die Aldosteronbiosynthese nicht um eine generelle Eigenschaft ieser Steroide handelt und die für den antagonistischen Effekt am ezeptor bekannten Strukturwirkungsbeziehungen hier nicht gelten.

ldosteron besitzt eine sehr kurze Halbwertszeit (t/2 = 30 min; TAIT, AIT, LITTLE und LAUMAS, 1961). Da außerdem der Aldosteroneffekt auf en Natrium- und Kaliumtransport mindestenes ebenso schnell abklingt ie er auftritt - dies weist auf eine kurze Halbwertszeit der unter dem ormonalen Einfluß synthetisierten spezifischen Proteine hin - s. MORRIS und DAVIS, 1974), spricht das schnelle Einsetzen der atriumeliminierenden und kaliumretinierenden Wirkung von Spirono-cton und Kaliumcanrenoat bei den intakten Ratten nicht gegen die nnahme einer Biosynthesehemmung als Ursache dieser Effekte. In diesem usammenhang ist darauf hinzuweisen, daß die nach älteren Unter-uchungen ausgesprochene Empfehlung, zur Prüfung mineralocorticoider ffekte an adrenalektomierten Tieren für etwa 24 - 30 Std nach Ent-ernung der Nebennieren das Abklingen der endogenen Aldosteronwirkun-en abzuwarten (KAGAWA, SKIPLEY and MEYER, 1952; DESAULLES, TRIPOD und CHULER, 1953), einen großen zeitlichen Sicherheitsspielraum beinhaltet.

Der Schluß, daß eine Inhibition der Aldosteronbiosynthese für die pharmakologischen Effekte der beiden Standardpräparate bei intakten Ratten verantwortlich sein könnte, wird auch dadurch gestützt, daß ERBLER (1974) mit Dosen in der gleichen Größenordnung (5 und 10 mg/kg Spironolacton) beim Menschen deutliche Anhaltspunkte für einen derartigen Hemmeffekt fand (fehlender kompensatorischer Anstieg des Serumaldosterons trotz Steigerung der Natriumausscheidung über mehrere Tage).

Daß bei den gesunden Probanden parallel dazu keine so akute drastische Steigerung der Natriumausscheidung auftrat wie im Tierexperiment (s.Punkt e), könnte mit der noch nicht maximalen Aktivierung des tubulären Na^+-Transports durch endogene Mineralocorticoide erklärt werden, die nach den erwähnten Zusammenhängen (deutliche zusätzliche Natriumretention bei exogener Aldosteronzufuhr) für den normalen Menschen diskutiert wird.

Die Richtigkeit dieser Annahmen muß noch durch Experimente überprüft werden, bei denen die Aldosteronkonzentration im Plasma bzw. die Sekretionsrate für Aldosteron bei intakten Ratten unter den hier gewählten Versuchsbedingungen zu bestimmen ist. Sollte sich ihre Richtigkeit bestätigen, wäre u.U. der Nachweis antimineralocorticoider Effekte an intakten Ratten als Hinweis auf diese Wirkungsqualität geeignet.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Hauptsächliches Ziel der Arbeit war es, eine an adrenalektomierten Ratten erprobte Methode zur Beurteilung der Wirksamkeit von Aldosteronantagonisten auf den gesunden Menschen zu übertragen. Sie beruht auf der Erzeugung einer Natriumretention und Steigerung der Kaliumelimination durch intravenöse Dauerinfusion von Aldosteron bei gleichzeitiger kontinuierlicher i.v. Flüssigkeitsbelastung (MARX, 1966; HOLLMANN, SENFT und WERNER, 1964; s. HERKEN, 1969). Der gegenüber Kontrolltieren absinkende Natriumgehalt sowie der ebenfalls erniedrigte Na^+/K^+-Quotient im Urin lassen sich dosisabhängig durch orale Vorbehandlung oder i.v. Infusion von Spirolactonen (z.B. Spironolacton bzw. Kaliumcanrenoat) aufheben. Aus dem Vergleich verschiedener Substanzen kann unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Dosierungen die relative Wirksamkeit ("Potency") neuer Spirolactonderivate gegenüber Standardsubstanzen ermittelt und hinsichtlich ihres zeitlichen Ablaufes charakterisiert werden (CASALS und BUSE, 1976). Eine zur i.v. Dauerinfusion und automatischen, fraktionierten Harnsammlung in vorprogrammierten Zeitintervallen geeignete Versuchsanlage, bei der simultan 78 Ratten untersucht werden können, steht hierfür zur Verfügung (CASALS, BUSE und LOSERT, 1976).

Als günstigstes Verfahren hat sich hierbei folgendes Vorgehen erwiesen: Verwendung adrenalektomierter Ratten, die mit Glucocorticoiden zur Aufrechterhaltung einer normalen Wasserausscheidungsfähigkeit substituiert sind; sechs- bis fünfzehnstündige Infusion von 3 ml/Tier und Std einer isotonischen aber fast natriumfreien Lösung (0,05 % NaCl, 5,2 % Glucose), kontinuierliche Zufuhr von 1 µg d-Aldosteron/kg/Std (entsprechend ~0,15 µg/Tier/Std). Der Effekt dieser maximal natriumretinierend wirkenden Aldosterondosis wird durch Vorbehandlung mit Spironolacton in Dosen von 6,6 -

13,2 und 26,4 mg/kg (entsprechend ~1 -~2 und~4 mg/Tier, 1 Std vor Infusionsbeginn) oder i.v. Dauerinfusion von Kaliumcanrenoat in Dosen von 1,32 - 2,64 und 5,28 mg/kg (entsprechend ~0,2 -~0,4 und~0,8 mg/Tier/Std) dosisabhängig aufgehoben.

5.1.1. Dieses Modell ließ sich bei nur geringfügigen Modifikationen sowohl hinsichtlich der Versuchsbedingungen als auch der verwendeten Mineralocorticoid- und Spirolactondosen auf die Verhältnisse bei gesunden Probanden übertragen.

Hierzu wurden in einer Vorstudie an gesunden männlichen und weiblichen Probanden praktikable Verfahren der kontinuierlichen Flüssigkeitszufuhr zur Erzeugung eines erhöhten Harnflusses und zur Ermittlung geeigneter Dosierungen von Aldosteron und den Standardaldosteronantagonisten Spironolacton und Kaliumcanrenoat ermittelt. In zwei Hauptstudien wurde in einem "Cross-over"- Verfahren, d.h. in einer verbundenen Testanordnung, an je 6 bzw. 5 weiblichen oder männlichen Versuchspersonen der Einfluß von Spironolacton und Kaliumcanrenoat auf die Natrium- und Kaliumausscheidung im Urin während einer sechsstündigen Flüssigkeitsbelastung mit und ohne Aldosteronzufuhr sowie einer zweistündigen Nachbeobachtung studiert.

Als Test für die Übertragbarkeit tierexperimenteller Versuche auf den Menschen wurde außerdem im Rahmen der Spironolactonstudie bei einem Teil der Probanden (5/6) dieses Standardpräparat mit einer Testsubstanz ähnlicher Struktur (Prüfbezeichnung ZK 62 355) verglichen, die - gemessen am Na^+/K^+-Quotienten im Urin - an adrenalektomierten Ratten eine etwa um den Faktor 2,5 geringere "Potency" gezeigt hatte als Spironolacton.

Als einzige technische Änderung gegenüber den Tierversuchen erfolgte aus Praktikabilitätsgründen die kontinuierliche Flüssigkeitsbelastung sowohl i.v. (5,2 %ige Glucoselösung mit 134 mval K^+/l, 250 ml/Std) als auch p.o. (Na^+- und K^+-armes Mineralwasser, bei Versuchsanfang 250, dann 125 ml/30 min). Aldosteron wirkte in gleicher Dosierung wie bei adrenalektomierten Ratten nach i.v. Zufuhr (83,3 µg/Std entsprechend ~1,1 µg/kg/Std) natriumretinierend und kaliumeliminierend. Der Effekt, der vor allem an einer deutlichen Abnahme der Natriumkonzentration und damit der Natriumausscheidung, sowie des Na^+/K^+-Quotienten im Urin erkennbar war, ließ sich dosisabhängig durch vorherige Gabe von Spironolacton oder gleichzeitige Infusion von Kaliumcanrenoat aufheben. Die Substanzen waren in folgenden Dosierungen abgestuft wirksam: 50 - 200 - 800 mg Spironolacton (entsprechend ~0,65 -~2,6 -~10,4 mg/kg, 90 min vor Infusionsbeginn) und ~ 0,65 -~1,3 - 2,6 mg Kaliumcanrenoat/kg/Std (entsprechend Gesamtdosierungen von 300 - 600 und ~1090 mg in 6 Std). Nur in der höchsten Dosierung überstieg der Spironolactoneffekt geringfügig das durch vollständige Aufhebung der exogen induzierten Natriumretention erklärbare Niveau. Damit übereinstimmend hatten beide Substanzen nur angedeutete Wirkungen auf die Elektrolytausscheidung, wenn sie ohne gleichzeitige Aldosteroninfusion verabreicht wurden.

Im gewählten Dosisbereich wurden mit einer Ausnahme keine Nebenwirkungen beobachtet. Nur in der höchsten Dosierung zeigten sich bei Gabe von Kaliumcanrenoat Unverträglichkeitserscheinungen (Erbrechen). Abweichend vom übrigen Verfahren konnte deshalb hier keine fixe Menge (1200 mg in 6 Std) gegeben werden, sondern die Dosis mußte unter Berücksichtigung unterschiedlicher Gewichte auf 15,5 mg/kg/6 Std begrenzt werden.

Der Wirksamkeitsvergleich zwischen Spironolacton und dem Spironolactonderivat ZK 62 355 ergab bei ähnlichem Ablauf der Wirkung eine weitgehende Übereinstimmung der "Potency" bei gesunden Probanden

und adrenalektomierten Ratten. Auf der Basis der Quotienten aus Natrium- und Kaliumgesamtausscheidung innerhalb von 6 Std wurden für ZK 62 355 folgende mittleren relativen Wirksamkeiten bei weiter Überlappung der Vertrauensbereiche im Vergleich zu Spironolacton (=1,0) ermittelt: 0,23 (Mensch), 0,42 (adrenalekt. Ratte). Das beschriebene Untersuchungsverfahren erscheint danach für die humanpharmakologische Prüfung neuer Antialdosterone geeignet, die im Tierexperiment als wirksam aufgefallen sind. Es bietet die Möglichkeit, ohne großen Aufwand für die spätere klinische Prüfung wichtige Informationen (Wirkungsintensität und -ablauf → Dosierung, Dosierungsintervall) über neue Substanzen dieses Typs zu erarbeiten.

5.1.2. Parallel zur Elektrolytausscheidung wurde bei der Studie mit Spironolacton und Kaliumcanrenoat der Verlauf der Canrenon- und Canrenoatkonzentration im Serum sowie die Ausscheidung fluoreszierender Metabolite (Canrenon, Canrenoat und Canrenoatesterglucuronid) gemessen. Canrenon ist ein pharmakologisch aktiver Metabolit sowohl von Spironolacton als auch von Kaliumcanrenoat und steht im Organismus in einem Gleichgewicht mit Canrenoat.

Bei Gabe beider Substanzen waren entsprechend dem pharmakologischen Effekt der verschiedenen Dosen sowohl die Serumkonzentrationen als auch die Ausscheidungsraten der gemessenen Metabolite dosisabhängig gesteigert. Nach Applikation von Spironolacton lagen erwartungsgemäß die Canrenonkonzentrationen im Serum über dem Gehalt an Canrenoat; bei Infusion von Kaliumcanrenoat wurde ein umgekehrtes Verhalten beobachtet. Die innerhalb von 8 Std gemessenen Metabolitgesamtausscheidungen im Urin betrugen in beiden Fällen etwa 5 - 8 % der Eingaben.

Hinsichtlich der absoluten Höhe der Canrenoatkonzentration im Serum und der davon abhängigen Canrenonausscheidung im Urin und dem jeweiligen pharmakologischen Effekt bestanden zwischen beiden

Studien erhebliche Unterschiede. Bei Gabe äquieffektiver Spironolactondosen wurden im Vergleich zur Infusion von Kaliumcanrenoat erheblich niedrigere Werte gemessen. Dieser Befund spricht dagegen, daß die aldosteronantagonistische Wirkung von Spironolacton ausschließlich auf dem intermediär gebildeten Canrenon beruht.

.2. In einer zusätzlichen Studie sollte geprüft werden, ob das für adrenalektomierte Ratten etablierte Untersuchungsverfahren zum Nachweis aldosteronantagonistischer Substanzeffekte auch mit intakten Ratten durchgeführt werden kann. Dies ist nicht der Fall, da in Übereinstimmung mit Ergebnissen anderer Autoren (MORRIS, BEREK und DAVIS, 1973) Aldosteron in der bei adrenalektomierten Tieren maximal natriumretinierend wirkenden Dosis (1 µg/kg/Std) zwar die Kaliumelimination erhöht, aber keine Verminderung der Natriumausscheidung bewirkt und damit nur zu vergleichsweise geringfügigen Erniedrigungen des Na^+/K^+-Quotienten im Urin führt. Da die Natriumausscheidung der intakten Kontrollen und der mit Aldosteron behandelten adrenalektomierten Tiere nahezu gleich war, wird diskutiert, daß bei der Ratte im Gegensatz zum Menschen der aktive tubulare Natriumtransport unter den gewählten Versuchsbedingungen bereits durch endogene Mineralocorticoide maximal stimuliert wird. Die dennoch nachweisbare Wirkung des Hormons auf die Kaliumelimination wird als weiteres Indiz für die bereits bekannte Dissoziation und wahrscheinlich voneinander unabhängige Steuerung beider Transportprozesse durch Mineralocorticoide angesehen.

Die beiden Standardspirolactone (Spironolacton und Kaliumcanrenoat), nicht aber das Spironolactonderivat ZK 62 355, zeigten dennoch antimineralocorticoide Wirkungen, die im Falle des Kaliumcanrenoats auch ohne exogene Aldosteronzufuhr nachweisbar waren (dosisabhängige Steigerung der Natrium- und Verminderung der Kaliumausscheidung in einer Größenordnung wie bei adrenalektomierten Ratten unter

Aldosteronbelastung) und als Wechselwirkung mit endogenen Mineralocorticoiden gedeutet werden müssen. Diese Effekte können aufgrund ihres Ausmaßes nicht durch einen Antagonismus gegenüber dem endogenen und exogenen Aldosteron an den "Mineralocorticoidrezeptoren" erklärt werden. Als mögliche Ursache wird eine Hemmung der Aldosteronbiosynthese diskutiert, wie sie von ERBLER (1972, 1973a, 1973b, 1974) nach in vitro- und in vivo Versuchen für Spironolacton als zusätzlicher Angriffspunkt angesehen wird. Die fehlende Wirkung des chemisch ähnlich struktuierten Spironolactonderivates ZK 62 355 würde bei Richtigkeit dieser Annahme darauf hinweisen, daß nicht alle aldosteronantagonistisch wirkenden Spirolactone diese Eigenschaft besitzen.

LITERATURVERZEICHNIS

ABSHAGEN, U., H. RENNEKAMP, and G. LUSZPINSKI:

Pharmacokinetics and Metabolism of Spironolactone in Man (Pharmakokinetik von Spironolacton beim Menschen).

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 293, Suppl., R 62 (1976)

ADLIN, E.V., A.D. MARKS, and B.J. CHANNIK:

Spironolactone and Hydrochlorothiazide in Essential Hypertension.

Arch. intern. Med., 130, 855 (1972)

AUGUST, J. Th., D.H. NELSON, and G.W. THORN:

Response of Normal Subjects to Large Amounts of Aldosterone.

J. Clin. Invest., 37, 1549 (1958)

BARGER, A.C., R.D. BERLIN, and J.F. TULENKO:

Infusion of Aldosterone, 9α-Fluorhydrocortisone and Antidiuretic Hormone into the Renal Artery of Normal and Adrenalectomized Unanesthetized Dogs: Effect on Electrolyte and Water Excretion.

Endocrinology, 62, 804 (1958)

BARTELHEIMER, H.K., W. LOSERT, G. SENFT und R. SITT:

Hemmung der extrarenalen Wirkung von d-Aldosteron durch Actinomycin D.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path., 258, 372 (1967)

BEHN, C., L. HANSEN, M. WIEDERHOLT, and A. LÜBBEMEIER:

Aldosterone Inhibitors of Protein Synthesis and Potassium Handling by the Rat Kidney.

VIII. Symposium der Gesellschaft für Nephrologie, Aachen, S. 503 (1971)

BIGLIERI, E.G.:

In: Bartter, F.C. : The Clinical Use of Aldosterone Antagonists.

C.C. Thomas, Springfield, Ill. (1960)

BREST, A.N., and J.H. MAYER:

Clinical Pharmacology of Diuretic Drugs.

Amer. J. Cardiol., 17, 626 (1966)

CAREY, R.M., J.G. DOUGLAS, J.R. SCHMEIKERT, and G.W. LIDDLE:

The Syndrome of Essential Hypertension and Suppressed Plasma Renin Activity. Normalisation of Blood Pressure with Spironolactone.

Arch. intern. Med., 130, 849 (1972)

CASALS, J., und M. BUSE:

unveröffentlichte Untersuchungen (1976)

CASALS, J., M. BUSE und W. LOSERT:

unveröffentlichte Untersuchungen (1976)

CELLA, J.A.:

Chemistry and Structure-Activity-Relationships of Some Steroidal Spirolactones.

In: Edema, Mechanismus and Managements, p. 303; edited by J.H. Moyer and M. Fuchs,

W.B. Saunders, Philadelphia, London (1960)

CELLA, J.A., and C.M. KAGAWA:

Steroidal Lactones.

J. Amer. Chem. Soc., 79, 4808 (1957)

CRABBÉ, J.:

Stimulation of Active Sodium Transport Across the Isolated Toad Bladder by Aldosterone in Vitro.

J. clin. Res., 8, 227 (1960)

CRANE, M.G., and J.J. HARRIS:

Hyporeninemic Hypertension.

Amer. J. Med., 52, 457 (1972)

DESAULLES, P., J. TRIPOD und W. SCHULER:

Wirkung von Elektrocortin auf die Elektrolyt- und Wasserausscheidung im Vergleich zu Desoxycorticosteron.

Schweiz. med. Wschr., 83, 1083 (1953)

DULCE, H.-J. und Th. GÜNTHER:

Steuerung des cellulären Elektrolyt- und Wassergehaltes durch Hormone.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak., 238, 368 (1960)

ECKART, J., R. HÄRING und I. KARAJANNIS:

Die Wirkung von Aldosteronantagonisten auf den Natrium- und Kaliumhaushalt in der postoperativen Phase.

In: Postoperative Störungen des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes. Pathophysiologie und Therapie, S. 247; herausgegeben von E.S.Bücherl, F. Krück, W. Leppla und F. Scheler;

F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York (1968)

EDELMAN, I.S.:

Mechanism of Action of Steroid Hormones.

J. Steroid Biochem., 6, 147 (1975)

EDELMAN, I.S., and G.M. FIMOGNARI:

On the Biochemical Mechanism of Action of Aldosterone.

Rec. Progr. Horm. Res., 24, 1 (1968)

ELMSLIE, R.G., A.T. MULHOLLAND, and R. SHIELDS:

Blocking by Spironolactone (SC 9420) of the Action of Aldosterone upon the Intestinal Transport of Potassium, Sodium and Water.

Gut, 7, 697 (1966)

ERBLER, H.C.:

Stimulation of Aldosterone Production in Vitro and Its Inhibition by Spironolactone.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 273, 366 (1972)

ERBLER, H.C.:

On the Mechanism of the Inhibitory Action of the Spirolactone SC 9376 (Aldadiene) on the Production of Corticosteroids in Rat Adrenals in Vitro.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 277, 139 (1973a)

ERBLER, H.C.:

Selective Inhibition of Aldosterone Synthesis by 11-Hydroxylated Spirolactone in Rat Adrenals.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 280, 331 (1973b)

ERBLER, H.C.:

The Effect of Saluretics and Spironolactone on Aldosterone Production and Electrolyte Excretion in Man.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 286, 145 (1974)

ERBLER, H.C., H. WERNZE, and M. HILFENHAUS:

Effect of the Aldosterone Antagonists Canrenone on Plasma Aldosterone Concentration and Plasma Renin Activity, and on the Excretion of Aldosterone and Electrolytes in Man.

Europ. J. clin. Pharmacol., 9, 253 (1976)

FANESTIL, D.D., and I.S. EDELMAN:

On the Mechanism of Action of Aldosterone on Sodium Transport. Effects of Inhibitors of RNA and of Protein Synthesis.

Fed. Proc., 25, 912 (1966)

FIMOGNARI , G.M., D.D. FANESTIL, and I.S. EDELMAN:

Induction of RNA and Protein Synthesis in the Action of Aldosterone in the Rat.

Amer. J. Physiol., 213, 954 (1967)

FRITZ, K.W., N. GERSWEIN, F.H. FRANKEN und H. BETHY:

Die Bedeutung von Spironolacton für die Diagnose des primären Aldosteronismus.

Dtsch. Med. Wschr., 89, 1993 (1964)

FUNDER, J.W., D. FELDMAN, E. HIGHLAND, and I.S. EDELMAN:

Molecular Modifications of Anti-Aldosterone Compounds: Effects on Affinity of Spirolactones for Renal Aldosterone Receptors.

Biochem. Pharmacol., 23, 1493 (1974)

FUNDER, J.W., D. MARVER, J. STEWART, D. FELDMAN, and I.S. EDELMAN:

The Mechanism of Action of Spirolactones.

Clin. Exper. Pharmacol. Physiol., Suppl. 2, 99 (1975)

GANONG, W.F., and P.J. MULROW:

Rate of Change in Sodium and Potassium Excretion after Injection of Aldosterone into the Aorta and the Renal Artery of the Dog.

Amer. J. Physiol., 195, 337 (1958)

GANTT, C.L., and R.E. ECKLUND:

Significance of Aldosterone Antagonism in the Treatment of Edema and Ascites.

Amer. J. Med., 33, 490 (1962)

GERHARDS, E. und R. ENGELHARDT:

Zum Stoffwechsel von 3-(3-Oxo-7α-acetylthio-17β-hydroxy-4-androsten-17α-yl)-propionsäure-γ-lacton.

Arzneimittel-Forsch. (Drug-Res.), 13, 972 (1963)

GIEBISCH, G.:

Functional Organization of Proximal and Distal Tubular Electrolyte Transport.

Nephron, 6, 260 (1969)

GREENBERG, A.J., H. McNAMARA, and W.W. McCROREY:

Renal Tubular Response to Aldosterone in Normal Infants and Children with Adrenal Disorders.

J. clin. Endocr., 27, 1197 (1967)

GOCHMAN, N., and C.L. GANTT:

A Fluorimetric Method for the Determination of a Major Spironolactone (Aldactone) Metabolite in Human Plasma.

J. Pharmacol. exp. Ther., 135, 312 (1962)

GWINUP. G., and T. STEINBERG:

Differencial Response to Thiazides and Spironolactone in Primary Aldosteronism.

Arch. Intern Med., 120, 436 (1967)

HERKEN, H.:

Aldosteron-Antagonisten.

In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, (Neue Serie), Band 24, Diuretica, S. 436 .

Herausgegeben von H. Herken,

Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1969)

HERKEN, H.:

Pseudo-Antialdosterone.

In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, (Neue Serie), Band 24, Diuretica, S. 494 .

Herausgegeben von H. Herken,

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1969a)

HERKEN, H., J. NATZSCHKA und G. SENFT:

Die Wirkung elektrischer Reizungen im Zwischenhirn auf den Salz- und Wasserhaushalt.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak., 234, 185 (1958)

HERKEN, H., G. SENFT, W. SCHWARZ und H.-J. MERKER:

Struktur und Funktion der Glomerula nach Einwirkung von Glucocorticoiden bei der Aminonucleosidnephrose.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak., 245, 289 (1963)

HERKEN, H., G. SENFT und H. WILUTZKY:

Die Erzeugung von Natrium- und Wasserretentionen zur Prüfung der Diuretica.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak., 229, 123 (1956)

HIERHOLZER, K.:

Analyse der Natrium-Transportstörung in der Niere adrenalektomierter Ratten. Untersuchungen am Einzelnephron.

Habilitationsschrift, Freie Universität Berlin (1964)

HIERHOLZER, K., und K.J. ULLRICH:

Grundzüge der Nierenphysiologie.

In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie,
(Neue Serie), Band 24, Diuretica, S. 1.

Herausgegeben von H. Herken,

Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1969)

HIERHOLZER, K., M. WIEDERHOLT und H. STOLTE:

Hemmung der Natriumresorption im proximalen und distalen Konvolut adrenalektomierter Ratten.

Pflugers Arch. ges. Physiol., 291,43 (1966)

HOFMANN, L.M., L.J. CHINN, H.A. PEDRERA, M.I. KRUPNICK,
and O.D. SULEYMANOV:

Potassium Prorenoate: A New Steroidal Aldosterone Antagonist.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 194, 450 (1975)

HOFMANN, L.M., R.C. POLK, and H.I. MAIBACH:

Renal Clearance of Canrenoate in Normal Man.

Clin. Pharm. Ther., 18, 748 (1975)

HOLLIFIELD, D.J.G., and G.W. LIDDLE:

Treatment of Low-Renin Essential Hypertension:
Comparison of Spironolactone and a Hydrochlorothiazide-Triamterene Combination.

Drugs, 9, 232 (1975)

HOLLMANN, H., G. SENFT und C. WERNER:

Tubuläre Wirkungen und renale Elimination von Spirolactonen.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u. Pharmak., 247, 419 (1964)

KAGAWA, C.M.:

Blocking the Renal Electrolyte Effects of Mineralocorticoids with an Orally Active Steroidal Spirolactone.

Endocrinology, 67, 125 (1960)

KAGAWA, C.M.:

Anti-Aldosterones.

In: Methods in Hormone Research, p. 351;
edited by R.J. Dorfman, Academic Press, New York, London (1964)

KAGAWA, C.M.:

Mineralocorticoid-Blocking Properties of a Progesterone-Like Derivate (SC-11835).

Endocrinology, 74, 724 (1964a)

KAGAWA, C.M., D.J. BOUSKA, and M.L. ANDERSON:

Relationship of Plasma Aldadiene Levels and Antimineralocorticoid Effects of Spironolactone in the Laboratory.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.), 115, 837 (1964)

KAGAWA, C.M., D.J. BOUSKA, M.L. ANDERSON, and W.F. KROL:

Pharmacological Properties of a Mineralocorticoid Antagonist (SC-14266).

Arch. int. Pharmacodyn., 149, 8 (1964)

KAGAWA, C.M., E.G. SHIPHY, and R.K. MEYER:

A Biological Method for Determining Small Quantities of Sodium Retaining Substances.

Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.), 80, 281 (1952)

KARIM, A., and E.A. BROWN:

Isolation and Identification of Novel Sulfur Containing Metabolites of Spironolactone.

Steroids, 20, 18 (1972)

KARIM, A., R.E. RANNEY, and H.I. MAIBACH:

Pharmacokinetic and Metabolic Fate of Potassium Canrenoate (SC-14266) in Man.

J. Pharm. Sci., 60, 708 (1971)

KARIM, A., J. ZAGARELLA, J. HRIBAR, and M. DOOLEY:

Spironolactone. I. Disposition and Metabolism.

Clin. Pharm. Ther., 19, 158 (1976)

KARIM, A., J. ZAGARELLA, T.C. HUTSELL, A. CHAO, and B.J. BALTES:

Spironolactone. II. Bioavailability.

Clin. Pharm. Ther., 19, 170 (1976)

KRÜCK, F.:

Aldosteron: Regulation, Wirkungsmechanismus und Pharmakodynamik.

In: Postoperative Störungen des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes, Pathophysiologie und Therapie, S. 199, herausgegeben von E.S. Bücherl, F. Krück, W. Leppla, F. Scheler,

F.K.-Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York (1968)

LEVIN, D.M., and R. CADE:

Intravenous d-Aldosterone in Man.

Circulation, 32, Suppl. II, 135 (1965)

LIEBAU, H., und W. JAROSCH von SCHWEDER:

Untersuchungen zur antihypertensiven Wirkung von Spironolactone.

Klin. Wschr., 52, 834 (1974)

LOSERT, W., G. SENFT und C. SENFT:

Extrarenale Wirkungen des Aldosterons und der Spironolactone.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak., 248, 450 (1964)

MALNIC, G., R.M. KLOSE, and G. GIEBISCH:

Micropuncture Study of Distal Tubular Potassium and Sodium Transport in Rat Nephron.

Amer. J. Physiol., 211, 529 (1966)

MANITIUS, A., and T. SUCHECKI:

The Mode of Action and Clinical Use of Spironolactones.

Mater Med. Pol., 4, 83 (1972)

MANN, H.B., and D.R. WHITNEY:

[Ann. Math. Statist., 18, 50 (1947)]

in: Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden. Zweite neubearbeitete und erweiterte Auflage.

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1969)

MARX, P.:

Renale Wirkungen des d-Aldosterons und seines Antagonisten Spironolacton.

Inauguraldissertation, Medizinische Fakultät der Freien Universität Berlin (1966)

MOBLEY, J.E., J.W. HEADSTREAM, and J. MELBY:

Primary Aldosteronism. Preoperative Preparation with Spironolactone.

J.A.M.A., 180, 1056 (1962)

MOLL, H.Ch., und K.R. KOCZOREK:

Über den Einfluß eines Aldosteronantagonisten (SC-8109) auf die Resorption von Natrium aus dem Magen-Darmtrakt von Ratten.

Klin. Wschr., 40, 825 (1962)

MORRIS, D.J., J.S. BEREK, and R.P. DAVIS:

The Physiological Response to Aldosterone in Adrenalectomized and Intact Rats and Its Sex Dependence.

Endocrinology, 92, 989 (1973)

MORRIS, D.J., J.S. BEREK, and R.P. DAVIS:

Sexpendence of the Metabolism of Aldosterone in Adrenalectomized and Intact Rats.

Steroids, 21, 397 (1973a)

MORRIS, D.J., and R.P. DAVIS:

Aldosterone: Current Concepts

Metabolism, 23, 473 (1974)

MROCZEK, W.J., M.E. DAVIDOV, A. HOROSCHAK, and F.A. FINNERTY, Jr.:

Canrenoate in Normal Man.

Clin. Pharm. Ther., 16, 336 (1974)

NOEL, P.R.B.:

Aldosterone Antagonist Activity.

Lancet, I/1962, 917

NOEL, P.R.B., and J.S. LEAHY:

The Estimation of the Activity of Aldosterone Antagonist in Man: Spironolactone (Aldactone) Activity.

Clin. Sci., 23, 477 (1962)

NORMAN, N., and J.H. VOGT:

Intravenous, Intramuscular and Peroral Aldosterone Administration, Urinary Recovery and Effect on Sodium and Potassium Excretion.

J. Oslo City Hospital, 13, 21 (1963)

PAUNIER, L., M. BORGEAUD, and M. WYSS:

Acute Effects of Aldosterone on Tubular Calcium and Magnesium Reabsorption.

Helv. med. Acta, 36, 265 (1972)

PORTER, G.A.:

In Vitro Inhibition of Aldosterone-Stimulated Sodium Transport by Steroidal Spirolactones.

Molecular Pharmacology, 4, 224 (1968)

RAMSAY, L., I. HARRISON, J. SHELTON, and M. TIDD:

Relative Potency of Prorenoate and Spironolactone in Normal Man.

Clin. Pharm. Ther., 18, 391 (1975)

RAMSAY, L.E., J.R. SHELTON, D. WILKINSON, and M.J. TIDD:

Canrenone - the Principal Active Metabolite of Spironolactone?

Brit. J. clin. Pharmac., 3, 607 (1976)

ROSS, E.J.:

Human Assay of Electrolyte-Active Steroids and Their Antagonists.

Clin. Sci., 23, 197 (1962)

ROSS, E.J., W.J. REDDY, A. RIVERA, and G.W. THORN:

Effects of Intravenous Infusions of dl-Aldosterone Acetate on Sodium and Potassium Excretion in Man.

J. clin. Endocr. Metab., 19, 289 (1959)

SADÉE, W., U. ABSHAGEN, C. FINN, and N. RIETBROCK:

Conversion of Spironolactone to Canrenone and Disposition Kinetics of Spirolactone and Canrenoate-Potassium in Rats.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 283, 303 (1974)

SADÉE, W., M. DAGCIOGLU, and S. RIEGELMAN:

Fluorometric Microassay for Spironolactone and Its Metabolites in Biological Fluids.

J. Pharmaceut. Sci., 61, 1126 (1972)

SADÉE, W., M. DAGCIOGLU, and R. SCHRÖDER:

Pharmacokinetics of Spironolactone, Canrenone and Canrenoate-K in Humans.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 185, 686 (1973)

SCHATTENFROH, C.:

Aldadiene-Kalium in der Bauchchirurgie.

In: Postoperative Störungen des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes. Pathophysiologie und Therapie, S. 225 ;
herausgegeben von E.S. Bücherl, F. Krück, W. Leppla und F. Scheler,

F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York (1968)

SCHULTIS, K.:

Postoperative Beeinflussung des Kohlenhydrat-, Stickstoff-, Fett- und Elektrolythaushaltes unter dem parenteral applizierbaren Aldosteron-antagonisten.

In: Postoperative Störungen des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes. Pathophysiologie und Therapie, S. 103;
herausgegeben von E.S. Bücherl, F. Krück, W. Leppla und F. Scheler,

F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York (1968)

SEALEY, J.E., and J.H. LARAGH:

A Proposed Cybernetic System for Sodium and Potassium Homeostasis: Coordination of Aldosterone and Intrarenal Physical Factors.

Kidney International, 6, 281 (1974)

SENFT, G.:

Glucocorticoids as Diuretic Agents.

In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Neue Serie, Band 24, Diuretica, S. 550. Herausgegeben von H. Herken,

Springer-Veralg, Berlin, Heidelberg, New York (1969)

SENFT, G., W. LOSERT, R. SITT, J. McEVOY und H. KAESS:

Vergleichende Untersuchungen Über den Einfluß von 6-Aminonicotinamid und 2,4-Dinitrophenol auf den Natrium- und Kaliumtransport verschiedener Gewebe.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Phaemak. exp. Path., 255, 388 (1966)

SHARP, G.W.G., and A. LEAF:

Studies on the Mode of Action of Aldosterone.

Recent. Progr. Horm. Res., 22, 431 (1966a)

SHARP, G.W.G., and A. LEAF:

Mechanism of Action of Aldosterone.

Physiol. Rev., 46, 593 (1966b)

SIEGENTHALER, W., R. de HALLER, R. VEYRAT et A.F. MULLER:

Influence d'un inhibiteur et d'un antagoniste de l'aldostérone sur la concentration du sodium sudoral.
Effet extra-rénal des spirolactones.

Helvet. med. Acta, 29, 550 (1962)

SIEGENTHALER, W., B. TRUNIGER, H. BÄCHTOLD, F. RHAMBERG und G. SIEGENTHALER:

Experimentelle und klinische Erfahrungen mit Aldosteronantagonisten (Spirolactone).
Schweiz. Med. Wschr., 91, 314 (1961)

SITT, R., G. SENFT, W. LOSERT und H. KAESS:

Der Einfluß von Hydrochlorothiazid auf die blutzuckersteigernde Wirkung des Diazoxids.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak., 253, 402 (1966)

STOLTE, H., J.P. BRECHT, M. WIEDERHOLT und K. HIERHOLZER:

Einfluß von Adrenalektomie und Glucocorticoiden auf die Wasserpermeabilität corticaler Nephronabschnitte der Rattenniere.

Pflügers Arch. ges. Physiol., 299, 99 (1968)

TAIT, J.F., S.A.S. TAIT, B. LITTLE, and K.R. LAUMAS:

The Disappearance of 7-H^3-d-Aldosterone in the Plasma of Normal Subjects.

J. clin. Invest, 40, 72 (1961)

WAGNER, H., F. WEIST und L. ZICHA:

Aldadien und andere Metaboliten im Blut und Harn nach rectaler Applikation von Spironolacton und intravenöser Injektion von Aldadien-Kalium.

Arzneimittel-Forsch. (Drug-Res.), 17, 415 (1967)

WIEDERHOLT, M.:

Mikropunktionsuntersuchungen am proximalen und distalen Konvolut der Rattenniere über den Einfluß von Actinomycin D auf den mineralocorticoidabhängigen Na-Transport.

Pflügers Arch. ges. Physiol., 292, 334 (1966)

WIEDERHOLT, M., C. BEHN, W. SCHOORMANS, and L. HANSEN:

Effect of Aldosterone on Sodium and Potassium Transport in the Kidney.

J. Steroid Biochem., 3, 151 (1972)

WIEDERHOLT, M., H. STOLTE, J.P. BRECHT und K. HIERHOLZER:

Mikropunktionsuntersuchungen über den Einfluß von Aldosteron, Cortison und Dexamethason auf die renale Natriumresorption adrenalektomierter Ratten.

Pflügers Arch. ges. Physiol., 292, 316 (1966)

WILDHIRT, E.:

Aldadiene-Kalium und portokavaler Shunt.

In: Postoperative Störungen des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes. Pathophysiologie und Therapie, S. 237; herausgegeben von: E.S. Bücherl, F. Krück, W. Leppla und F. Scheler,

F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York (1968)

WILLIAMSON, H.E.:

Mechanism of the Antinatriuretic Action of Aldosterone.

Biochem. Pharmacol., 12, 1449 (1963)

ZICHA, L., F. WEIST, F. SCHEIFFARTH und E. SCHMIDT:

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen des 3-(3-Oxo-7α-acetylthio-17ß-hydroxy-4-androsten-17α-yl-propionsäure-γ-lactons und seiner Metaboliten beim Menschen.

Arzneimittel-Forsch. (Drug-Res.), 14, 699 (1964)

7. LEBENSLAUF

Am 29. Dezember 1931 wurde ich, JAKOB SCHMALBACH, als Sohn des Tischlermeisters Karl Schmalbach und dessen Ehefrau Anna, geb Pies, in Köln geboren.

Von 1938 - 1948 besuchte ich die Volksschule in Köln und die Realschule in Köln und Mayen. Von 1949 - 1955 war ich bei der Mannesmann GmbH in Köln tätig, zunächst als Lehrling und anschließend als Großhandelskaufmann. Danach besuchte ich das Abendgymnasium in Neuß und die Deutsche Oberschule in Madrid bis 1958 mit Abiturabschluß. Von 1958 - 1964 studierte ich Medizin an den Universitäten Bonn und Köln. Mit dem Studienende waren auch die Experimente zu einer Doktorarbeit abgeschlossen, die jedoch wegen des Weggangs des Doktorvaters als Chefarzt an ein entferntes Krankenhaus und wegen meiner Medizinalassistentenzeit an ebenfalls weit auseinanderliegenden Häusern (Rheinhausen, Berlin-Moabit, Heinsberg, Frauenfeld/Schweiz) nicht vollendet werden konnte.

Von 1967 - 1971 vollzog ich meine Ausbildung als Facharzt für Radiologie, und seit November 1971 bin ich als Oberarzt der Radiologischen Abteilung des Krankenhauses Köln-Porz tätig.

Ich bin seit 1971 verheiratet und habe zwei Söhne.

Die tierexperimentellen Arbeiten zur vorliegenden Dissertation wurden 1974 an Urlaubstagen und verlängerten Wochenenden in den Forschungslaboratorien der Schering AG in Berlin durchgeführt, während die Humanstudie 1975 im Krankenhaus Porz erfolgte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. W. Losert für die freundliche Überlassung des Themas und die Anleitung zu den Versuchen.

Herrn Dr. J. Casals, Department Allgemeine Pharmakologie der Schering AG, danke ich sehr herzlich für die Ratschläge und die großzügige Unterstützung, die er mir bei der Anfertigung dieser Arbeit zuteil werden ließ.

Der Schering AG, Berlin/Bergkamen, danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Geräte zur Durchführung der Tierversuche sowie für die technische Unterstützung bei dem Zustandekommen der humanpharmakologischen Untersuchungen.

Herrn Professor Dr. med. H. Venrath, Chefarzt der Inneren Abteilung des Krankenhauses Köln-Porz, danke ich sehr für die Erlaubnis, den experimentellen Teil der Humanstudie in den Räumlichkeiten und teilweise mit den Geräten des klinischen Labors durchführen zu können.